RENDICONTI

DELLE SEDUTE

DELLA REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

Adunanza delle due Classi, del 17 maggio 1908.

P. Blaserna, Presidente.

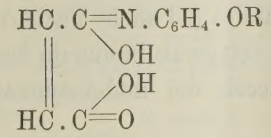
MEMORIE E NOTE
DI SOCI O PRESENTATE DA SOCI

Chimica. — *Derivati maleinici e fumarici di p.amminofenoli* [1]. Nota del Corrispondente Arnaldo Piutti.

Una breve notizia riguardante l'azione dell'anidride maleinica sui p.amminofenoli ho già data in una seduta della Società Chimica di Roma (22 maggio 1904); ma l'annunciato lavoro, per varie ragioni più volte interrotto, non potè essere condotto a buon punto che in questo ultimo tempo, epperò solo ora mi è dato di poterne riferire alquanto diffusamente.

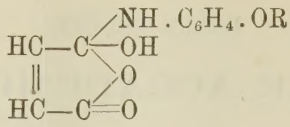
L'anidride maleica reagisce coi p.amminofenoli, in soluzione benzolica, come altre anidridi di acidi bibasici formando, per semplice addizione di uguali molecole dei componenti, l'*acido ammico* sostituito, il quale, a differenza dei corrispondenti composti colle anidridi sature, grasse od aromatiche, è colorato in giallo e dà col cloruro ferrico, in soluzione acquoso-alcoolica, una colorazione violetta, quando l'idrogeno dell'ossidrile fenolico è sostituito coi radicali alcoolici.

È quindi probabile che questi acidi ammici abbiano la costituzione *enolica*, rappresentata dalla formola:



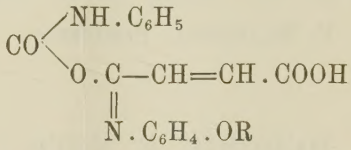
(1) Lavoro eseguito nell'Istituto Chimico-Farmaceutico della R. Università di Napoli.

sembrandomi meno accettabile la costituzione:

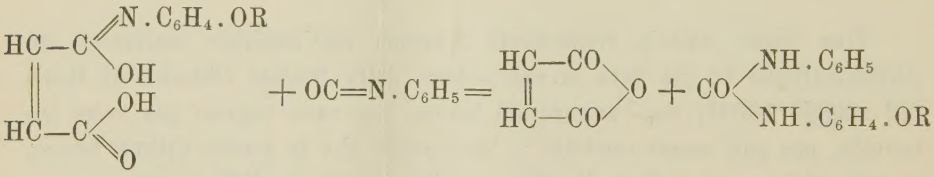


alla quale accennai sino dal 1903 (1), sia per il loro colorito giallo, sia perchè decompongono facilmente i carbonati.

La prova della presenza dell'*OH enolico*, colla formazione dell'uretano sostituito:



che questi acidi avrebbero potuto fornire, nella reazione coll'isocianato di fenile, non si è però potuta raggiungere poichè, in presenza di toluolo anidro ed a freddo, essi rimangono inalterati; mentre a caldo, il reattivo li scompone con formazione di anidride maleica o delle difeniluree monosostituite (2) secondo l'equazione:



Questa reazione però non è sufficiente per escludere la presenza dell'ossidrile negli acidi ammici, nè autorizza a concludere per la loro struttura aldolica, poichè vi sono dei casi di composti ossidrilici (ac. picrico, ecc.) che non reagiscono coll'isocianato; ed oltre a ciò non sembra improbabile che l'anidride maleica e le difeniluree sostituite, che si sono isolate, non provengano dalla decomposizione dell'uretano, instabile alla temperatura abbastanza alta del toluolo bollente alla quale solamente avviene la reazione.

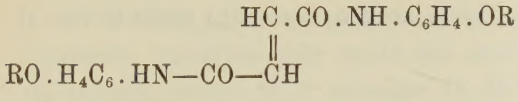
Invece questa serve a dimostrare che gli acidi sono ancora derivati maleinici, ciò che è necessario di fare, data la grande facilità colla quale essi si trasformano nei derivati fumarici.

Infatti se l'anidride maleica (od anche l'acido) si fondono coi p.amminofenoli, anche mantenendo la temperatura quanto bassa è possibile (125-130°) accanto a quantità molto piccole dei maleinammati (o fumarammati) degli

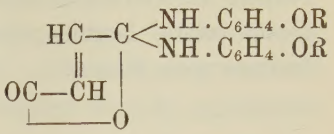
(1) Gazz. Chim. XXXIII, II, pag. 33.
(2) Ibid.

amminofenoli, si ottiene un prodotto principale costituito dalle corrispondenti *diammidi fumariche*, che si possono rappresentare con una delle due formole:

I.

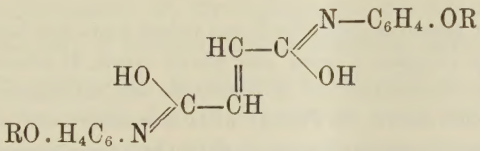


II.



di cui la II sembra la meno probabile.

La formola I (simmetrica) ha inoltre la possibilità di trasformarsi nella formola *enolica*:



e difatti queste ammidi possono aversi in due forme, l'una *bianca* e l'altra *gialla*.

Cristallizzate dall'alcool esse si presentano in laminette bianche splendenti, mentre colla spontanea evaporazione delle soluzioni cloroformiche o benzoliche molto concentrate, o col raffreddamento di soluzioni calde in acidi grassi liquidi (acetico, propionico, butirrico, valerianico) ed anche dal fenolo, esse si depongono sotto forma di lamine gialle, lucenti, che fondono alla stessa temperatura della forma bianca ed hanno pure uguale composizione e grandezza molecolare.

Potendosi però le forme *bianche* trasformare in quelle *gialle* colla semplice triturazione in un mortaio e queste, a loro volta, in *bianche*, precipitando con acqua le soluzioni solforiche concentrate e fredde, così sembra che non sia il caso di invocare per esse una isomeria chimica come quella indicata dalle forme *aldolica* ed *enolica*, ma che piuttosto si debbano considerare quali modificazioni fisiche (*enantiotropiche*) della stessa natura delle immidi ftaliche ed idroftaliche sostituite già osservate e studiate in questo laboratorio (1).

(1) Nell'ultimo Congresso della Società dei Naturalisti e Medici tedeschi (Dresda, 15-21 settembre 1907, Chemicher Zeitung n. 76, pag. 943) il prof. Hantsch tenne una interessante conferenza sulla « Cromoisomeria ».

Nella sua esposizione egli cercò di trasportare le relazioni fra costituzione e colore nel campo delle isomerie ed il fenomeno che una sostanza colla stessa formola di struttura possa presentarsi in due modificazioni colorate, chiamò *cromoisomeria*, mentre le variazioni di colore dovute alla isomerizzazione indicò col nome di *cromotropie*. Così per esempio sostanze del tipo $C^6X^2\begin{matrix}(OH)_2\\(COOR)_2\end{matrix}$ le quali si presentano tanto incolore che colorate e parimenti del composto $C^6H^4\begin{matrix}OCH_3\\NO^2\end{matrix}$ si conosce una modificazione incolora ed

Che queste diammidi siano poi derivati fumarici è provato dal fatto che le stesse sostanze vennero ottenute dal dott. Luigi D' Emilio jun. facendo agire il calore sui fumarati acidi e neutri degli amminofenoli. Invece nell'azione del cloruro di fumarile sugli stessi ed a seconda del solvente adoperato (etere, benzolo, cloroformio, etere acetico, acetone) i prodotti che si formano sono diversi.

---

una gialla, senza che per questo gli isomeri si possano nettamente distinguere. Alle sostanze *cromotrope* appartengono anche i sali dell'acido violurico, nei quali l'isomeria non è stata riscontrata, ma è presumibile essendo noti in due forme gli esteri corrispondenti.

Il prof. Hantsch espose ia proposito le sue vedute sopra due diverse formole di struttura, la *chetoide* e la *chinoide* e sopra una nuova specie di isomeria, non ancora dilucidata, riguardante le nitroaniline che si presentano con colorazioni gialla e rossa.

Come giustamente osservò E. Fischer nella discussione che seguì la conferenza di Hantsch, l'espressione *cromoisomeria* non è altro che un nome nuovo; e se si tien conto di quelle sostanze che emettono raggi ultrarossi ed ultravioletti, invisibili al nostro occhio, anche le ordinarie isomerie dovrebbero venir considerate da questo punto di vista.

Del fatto che una sostanza può presentarsi in due modificazioni diversamente colorate, senza che perciò possa ad essa attribuirsi, colle ordinarie rappresentazioni, una diversità di struttura, cioè del fenomeno che l'Hantsch chiama *cromoisomeria*, mi sono occupato anche io, sino dal 1902, in un lavoro « sui derivati ammidati di acidi ftalici ed idroftalici », pubblicato insieme col dott. Abati (Gazz. Chim., XXX, b. 1; Berichte XXXVI, 996) e tanto in questa, quanto in altra breve comunicazione che ho fatta più tardi alla Reale Accademia di scienze fisiche e matematiche di Napoli (11 luglio 1903), ho considerato tali casi piuttosto come isomerie fisiche dello stesso genere dello zolfo e del ioduro mercurico, ecc. A questa stessa categoria di sostanze appartengono indubbiamente alcune che ho fatte preparare da miei assistenti o da allievi, come per es. le seguenti:

ossifenilpirocinconimmide	P. F.	200° (Abati)
metossifenilpirocinconimmide . . .	»	139° »
etossifenilpirocinconimmide	»	117° »
metossifenilmesacondiammide . . .	»	161°-162° (Padula, Marciano),

le quali si presentano in due forme, l'una bianca e l'altra gialla, fusibili alla stessa temperatura e reciprocamente trasformabili.

Ma vennero pure ottenuti alcuni acidi itaconammici sostituiti, che debbono riguardarsi senza alcun dubbio quali *isomeri chimici*, poichè hanno reazioni e punti di fusione diversi fra loro. Gli acidi sin quì preparati sono i seguenti:

ossifenilitaconammico	118-119° giallo (I. Foà) 97-98° bianco » 161-162° bianco (L. Rossi),
metossifenilitaconammico . . .	144-145° giallo (I. Foà) 135-136° bianco » 166-167° » »
etossifenilitaconammico . . .	148-149° giallo (I. Foà) 134-135° bianco » 165-166° » (L. Rossi).

Quanto a piccole quantità di acidi ammici che non sono derivati fumarici ma *maleinici*, si formano le precedenti diammidi insieme ad altre più complesse, con punti di fusione più alti e con una più elevata grandezza molecolare, ma aventi la stessa composizione centesimale.

Gli acidi gialli ottenuti, come già dissi, in soluzione benzolica, dall'anidride maleinica, sono molto più stabili degli acidi ammici provenienti da anidridi sature, fatta eccezione dei derivati canforici che sono egualmente molto stabili.

Infatti, per azione del calore, essi non si trasformano nelle corrispondenti immidi, come avviene tanto facilmente in altri casi, per esempio in quello degli acidi ftalammici ed idroftalammici; ma dànno invece le diammidi fumariche, le quali si possono formare anche col semplice riscaldamento delle loro soluzioni alcooliche, in autoclave, dai 140° a 150°.

Per ottenere le immidi degli acidi ammici non è però indicata l'azione del calore, ma bisogna servirsi di disidratanti, come l'ossicloruro di fosforo ed il cloruro di acetile, i quali, e specie quest'ultimo, bisogna far agire in soluzione acetonica per breve tempo, ed a blando calore a fine di evitarne la parziale decomposizione e la formazione di derivati clorurati di immidi sature (1). In questo modo si ottengono rendimenti quasi teorici.

Ma le immidi così ottenute sono bianche e non dànno le forme *enantiotropiche*, nè meccanicamente nè per ricristallizzazione dai più disparati solventi. Esse sono molto stabili e possono essere bollite anche lungamente negli idrocarburi aromatici aventi un elevato punto di ebollizione e si possono mantenere nella paraffina fusa anche a 360° senza decomporsi notevolmente e senza dare composti isomerici.

Invece, tenute lungamente allo stato di fusione, fra i 130° e 140°, in corrente di anidride carbonica secca, si trasformano parzialmente in immidi *gialle*, che hanno la medesima composizione delle *bianche*, da cui derivano, ma un punto di fusione più alto.

Queste immidi gialle sono volatili ed una maniera facile, se non conveniente, di prepararle, si è quella di scaldare dai 170° ai 180° in una corrente di anidride carbonica secca, i corrispondenti acidi maleinammici.

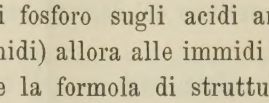
L'immide sublima sulle pareti fredde della bevuta in aghi gialli che si possono distaccare facilmente e purificare con cristallizzazioni dall'acido acetico o dall'alcool.

Dal fatto che la mescolanza delle due immidi (parti 9 della bianca e parti 1 della gialla) fonde a temperatura più bassa dei rispettivi punti di fusione di ognuna di esse, nonchè dal loro diverso comportamento cogli etilati alcalini, come dirò in seguito, si può ritenere che non sieno due forme *enantiotropiche*, come è il caso delle diammidi fumariche precedenti, ma

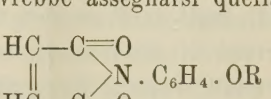
(1) Rend. Accad. Scienze fisiche e matematiche, serie 3ª, vol. IV (1898), pag. 45.

che debbono invece considerarsi quali isomeri chimici. Data la loro volatilità e visto che forniscono, sciolte negli alcali, lo stesso acido maleinammico dal quale provengono, non è dubbio che sieno derivati *maleinici*, ed è probabile che all'una spetti la forma simmetrica ed all'altra quella asimmetrica previste dalla teoria.

Ammettendo per ora coll'Hoogewerff [1] che per azione del cloruro di acetile o dell'ossicloruro di fosforo sugli acidi ammici si ottengano le immidi asimmetriche (isoimmidi) allora alle immidi *bianche*, ottenute col cloruro di acetile, spetterebbe la formola di struttura



mentre a quelle *gialle*, dovrebbe assegnarsi quella simmetrica:



con la quale andrebbe d'accordo anche la loro volatilità.

Come ho già accennato, queste due specie di immidi si differenziano nettamente per il loro comportamento cogli alcali, e cogli alcoolati alcalini.

Infatti, mentre le forme gialle si sciolgono in questi senz'altro, dando un liquido appena colorato in giallo, le bianche forniscono un'intensa colorazione violetta (la p.ossifenilmaleinimmide solo rosso-sanguigna quando si butta solida nell'alcoolato), ed i prodotti colorati così ottenuti, opportunamente isolati ed analizzati corrispondono all'unione di una molecola di immide con una di alcoolato:

$$C^4H^2O^2N.C^6H^4OR\ ,\ C^nH^m.OM'.$$

Questi prodotti sono analoghi a composti simili che ho già ottenuti per azione degli alcoolati ed acetonati alcalini sulle immidi degli acidi citraconico ed itaconico [2]. Solamente in questi ultimi casi le immidi che dànno cogli alcoolati i composti violetti non sono bianche ma colorate in giallo.

La sublimazione degli acidi ammici gialli in corrente di anidride carbonica non è però la sola maniera di avere le immidi gialle volatili.

Insieme al dott. Marciano ho potuto anche ottenerle per disidratazione con anidride fosforica degli acidi ammici gialli, sospesi nel toluolo o nello xilolo scaldati per molto tempo direttamente od a bagno-maria; ed è da notarsi che in questi casi l'anidride fosforica agisce in modo diverso dell'os-

(1) Recueil des Travaux chimiques des Pays-Bas, Hoogewerff et Van Dorp, vol. XII, pag. 12; XIII, pag. 93.

(2) Rend Accad. Scienze fisiche e matematiche di Napoli, fasc. 5 maggio 1906 e fasc. 12 dicembre 1906; Gazz. Chim. XXXVI b. 364 e 723.

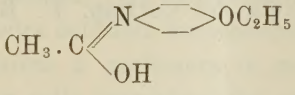
sicloruro di fosforo e del cloruro di acetile, dando principalmente le immidi simmetriche *gialle* invece delle isoimmidi *bianche*.

L'anidride acetica che, in parte, agisce nello stesso modo sugli acidi ftalammici sostituiti, formando immidi gialle, scompone intieramente gli acidi maleinammici in anidride maleica e nei derivati acetilici degli amminofenoli.

Il caso della sua azione sopra questi acidi è particolarmente istruttivo poichè mostra con quanta oculatezza bisogna procedere per non confondere la soluzione solida di una sostanza colorata, in un'altra incolore, col colore dipendente dalla isomeria o dalla monotropia.

Specialmente nel caso dell'acido p.etossifenilmaleinammico la fenacetina ottenuta da diverse reazioni era sempre gialla ed il colore si manteneva della stessa intensità anche dopo due o tre cristallizzazioni dallo stesso solvente.

L'ipotesi, abbastanza seducente, che qui si fosse formata la fenacetina *enolica*:



prevista dalla teoria era avvalorata anche dal fatto che il color giallo della sostanza si accentuava fortemente con l'acido cloridrico, quasi scompariva un momento prima della fusione e ricompariva nella sostanza fusa ed in quella risolidificata.

Ma, dopo una diecina di cristallizzazioni alternate da due solventi (alcool ed etere acetico) e dopo trattamenti con carbone animale, ho potuto liberarla da una sostanza gialla, che trattiene tenacemente e che sembra identica con altra che, nelle cristallizzazioni frazionate dall'acetone dei prodotti della reazione, il dott. L. Rossi riuscì ad isolare nelle ultime acque madri, in quantità troppo piccola però per essere analizzata.

Questa sostanza, che con l'acido cloridrico dà appunto una colorazione giallo-aranciata, fonde dai 155° ai 157° e si presenta in tavolette allungate di color giallo intenso, con vivissimo splendore, e, cosa notevole, data l'intensità del colore, senza sensibile pleocroismo.

Allorchè si aggiunge una piccola quantità di questa sostanza gialla ad una soluzione calda di fenacetina incolora, ordinaria, nell'alcool o nell'etere acetico, per raffreddamento, si ottengono cristalli più o meno colorati in giallo, che presentano lo stesso pleocroismo e le stesse proprietà ottiche dei cristalli ottenuti nell'azione dell'anidride acetica sull'acido p.etossifenilmaleinammico e che evidentemente non sono altro che una soluzione solida della sostanza gialla nella fenacetina.

La parte esperimentale di questo lavoro verrà in seguito pubblicata.

Chimica. — *Iodurazione della metanitroanilina mediante ioduro e iodato potassico.* Nota del Socio G. Körner e del dott. Belasio.

Chimica-fisica. — *Ricerche chimico-fisiche sui liquidi animali.* - I. *Il « tempo di deflusso » del siero del sangue di alcuni animali marini e terrestri.* Nota del Corrisp. F. Bottazzi.

Chimica-fisica. — *Ricerche chimico-fisiche sui liquidi animali.* - II. *Il contenuto in azoto proteico del siero del sangue dei diversi animali.* Nota del Corrisp. F. Bottazzi.

Chimica-fisica. — *Ricerche chimico-fisiche sui liquidi degli animali.* - III. *Variazioni della conduttività elettrica, viscosità e tensione superficiale del siero del sangue durante la dialisi.* Nota del Corrisp. F. Bottazzi, G. Buglia e A. Jappelli.

Chimica. — *Sui ferrinitrososolfuri.* Nota di Livio Cambi, presentata dal Socio G. Ciamician.

Le Note precedenti saranno pubblicate nei prossimi fascicoli.

Biologia. — *Influenza della Lecitina sulla determinazione del sesso e sui caratteri mendeliani.* Nota preliminare di Carlo Basile (1), presentata dal Socio B. Grassi.

È oramai a tutti noto che il prof. Achille Russo, da coniglie sottoposte ad iniezioni di lecitina « Merck » sciolta in olio di vasellina nella proporzione del 10 %, ottenne una percentuale dei nati di sesso maschile (33, 48 %) notevolmente minore di quella che si riscontra nelle coniglie non sottoposte alle iniezioni (58, 22 %); è del pari noto che in seguito alle suddette iniezioni egli ottenne anche un numero molto maggiore di nati con colorito materno. Conclude la sua estesa Memoria (2) spiegando il primo fatto come un'inversione della proporzione fra i due sessi, ed il secondo come una deviazione dalla legge di Mendel. Da minuziose ricerche istologiche egli induce che la lecitina penetra nell'uovo arricchendolo di materiale nutritivo; e, poichè il fenomeno avviene a preferenza in certe uova, egli, basandosi sulla suaccennata differenza nelle percentuali dei nati dei due sessi, suppone che le uova *ipernutrite* siano per femmine. Ognuno rileva la grande importanza di queste osservazioni, le quali aprono un ampio e nuovo orizzonte.

Nel marzo dell'anno scorso, mi accinsi a ripetere gli esperimenti del prof. Russo, sia perchè consigliato dal prof. Grassi (3), sia anche perchè incitato dallo stesso Russo, che molto ha facilitato l'inizio del mio lavoro.

Sebbene i miei studi siano ancora in continuazione, credo interessante riferire i dati finora raccolti.

Furono prescelte per gli esperimenti coniglie tutte grigie, che avevano già partorito una prima volta, e vennero tutte tenute nelle stesse condizioni. In parte servirono per i dati statistici normali, in parte, e precisamente sei, vennero sottoposte alle iniezioni di lecitina « Merck » sciolta in olio di vasellina (4).

A quattro furono fatte alternativamente iniezioni sottocutanee e infraperitoneali; a due solamente iniezioni sottocutanee. Non tardò molto che le

(1) Dal Laboratorio di Anatomia comparata dell'Università di Roma.

(2) Achille Russo, *Modificazioni sperimentali dell'elemento epiteliale dell'ovaia dei mammiferi* (da servire come base per la determinazione artificiale del sesso femminile e per la interpretazione della legge di Mendel sulla prevalenza degli ibridi). Roma, Acc. dei Lincei, 1907, Classe di Scienze fisiche ecc., serie 5ª, vol. VI, fasc. XII.

(3) Rivolgo sentiti ringraziamenti al prof. Grassi che mi accolse nell'Istituto da lui diretto e che mi guidò nelle ricerche.

(4) Per il metodo adoperato per fare le soluzioni e per la tecnica delle iniezioni vedi: Achille Russo. Memoria citata.

prime quattro morirono; aperta la cavità addominale, ho potuto notare anch' io quel liquido lattescente, di cui parla il Russo.

Queste coniglie furono sostituite con altre, che ritenni quindi opportuno sottoporre alle sole iniezioni sottocutanee. Esse però, contrariamente alle precedenti, non avevano mai partorito, prima che le assumessi in esperimento.

Quanto poi a quelle due, a cui sin dal marzo dell'anno scorso erano state fatte soltanto iniezioni sotto la cute, debbo avvertire che, pur verificandosi un miglioramento nelle condizioni generali del loro organismo, si formarono, tuttavia, ad onta delle precauzioni da me usate, degli ascessi nel punto delle iniezioni; questi ascessi, che io guarivo col taglio, molto rari dopo le prime due o tre serie di iniezioni, divennero molto frequenti dopo le successive.

Inoltre le due coniglie in discorso non sempre restarono gravide dopo i varî coiti di una prima unione col maschio. Il fatto, del resto, accadde anche nelle coniglie di confronto, ma con una frequenza minore (s' intende che le coniglie venivano tenute isolate).

Qualche ascesso si produsse anche in qualcuna delle altre quattro coniglie, sostituite, come ho detto, a quelle morte.

Tutto questo insieme di fatti apporta, nella valutazione dei dati statistici, inconvenienti abbastanza notevoli, come risulterà più avanti. Per ora faccio notare soltanto che, a cominciare dal 16 gennaio 1908, sostituii al liquido adoperato dal Russo le iniezioni di « Bioplastina Serono » la quale, essendo un'emulsione di lecitina pura in soluzione fisiologica, non determina, per quanto finora ho veduto, inconvenienti di sorta. Eliminati questi con la innovazione da me fatta, a mio avviso, si rende più chiara l'azione della lecitina, per lo scopo che io mi prefiggo.

Colgo l'occasione per porgere al prof. Serono le mie più sentite grazie, per le gentilezze che egli mi ha usato e per i particolari che mi ha fornito sul metodo di preparazione della sua « bioplastina » : preparazione che esclude completamente la presenza di sostanze estranee alla lecitina. Il non verificarsi ascessi con la « bioplastina Serono », fa logicamente supporre che quegli occorsi adoperando il liquido proposto dal Russo dovevano essere da questo occasionati.

Prima di procedere oltre, è opportuno che io presenti la storia delle due sopraccitate coniglie sottoposte alle sole iniezioni sottocutanee sin dal marzo 1907. La lecitina « Merck » è stata sciolta nell'olio di vasellina nella proporzione del 10 %.

Coniglia n. 2.

Comperata il 5 marzo 1907.

Dal 5 marzo al 5 aprile 1907: serie di 10 iniezioni di lecitina Merck.

Dal 23 aprile al 12 maggio 1907: serie di 8 iniezioni di lecitina Merck.

Il 12 maggio 1907 viene accoppiata.

Il 12 giugno 1907 partorisce figli $7 = 3\,♂ + 4\,♀$.

Dal 25 giugno al 12 luglio 1907: serie di 12 iniezioni di lecitina Merck.

Dal 18 luglio al 22 luglio 1907 viene ripetutamente accoppiata, ma resta infeconda.

Dal 2 settembre al 4 settembre 1907 viene ripetutamente accoppiata, ma resta infeconda.

Il 12 ottobre 1907 viene accoppiata.

Il 12 novembre 1907 partorisce figli 4 = 3 ♂ + 1 ♀.

Dal 3 dicembre al 12 gennaio 1908: serie di 13 iniezioni di lecitina Merck.

Il 12 gennaio 1908 viene accoppiata.

Il 12 febbraio 1908 partorisce figli 7 = 4 ♂ + 3 ♀.

Nel nido dov'essa ha partorito, e per la prima volta in questa coniglia, ho trovato anche un embrione morto, il cui sesso spero di poter determinare coll'esame istologico.

Dal 16 gennaio al 28 febbraio 1908: serie di 17 iniezioni di « bioplastina Serono ».

Il 28 febbraio 1908 viene accoppiata.

Il 19 marzo viene trovato nella gabbia un feto morto di sesso maschile; il 20 marzo se ne trovano altri 8, pure morti, di cui 6 quasi completamente sviluppati, e 2 molto più arretrati nello sviluppo. Il sesso di questi due potrò forse determinarlo con l'esame istologico; degli altri 7, 5 sono di sesso maschile e 2 di sesso femminile.

Il 2 aprile 1908 viene accoppiata.

Coniglia n. 3.

Comperata il 5 marzo 1907.

Dal 5 marzo al 15 marzo 1907: serie di 4 iniezioni di lecitina Merck.

Il 16 marzo 1907 partorisce figli 6 = 3 ♂ + 3 ♀.

Dal 2 aprile all'11 maggio 1907: serie di 13 iniezioni di lecitina Merck.

Il 13 maggio 1907 viene accoppiata.

Il 13 giugno 1907 partorisce figli 4 = 1 ♂ + 3 ♀.

Dal 25 giugno al 12 luglio 1907: serie di 12 iniezioni di lecitina Merck.

Il 18 luglio 1907 viene accoppiata, ma resta infeconda.

L'11 settembre 1907 viene ancora accoppiata.

L'11 ottobre 1907 partorisce figli 4 = 2 ♂ + 2 ♀.

Dal 10 novembre all'11 dicembre 1907: serie di 12 iniezioni di lecitina Merck.

L'11 dicembre 1907 viene accoppiata.

1° gennaio 1908 abortisce; si trova nella gabbia un embrione morto di sesso indeterminato.

Il 17 gennaio 1908 viene accoppiata, ma resta infeconda.

Dal 17 gennaio al 11 febbraio 1908: serie di 10 iniezioni di « bioplastina Serono ».

Il 26 febbraio 1908 viene accoppiata.

Dal 28 febbraio al 25 marzo 1908: serie di 11 iniezioni di « bioplastina Serono ».

Il 29 marzo 1908 dà alla luce un maschio, una femmina ed un piccolo embrione di sesso indeterminato.

Questa piccola quantità di nati m' indusse ad uccidere la coniglia per esaminarne gli uteri. Con mia meraviglia trovai attaccati alla mucosa uterina altri tre piccoli embrioni morti durante lo sviluppo!

Pur riservandomi di continuare gli esperimenti, fin da ora a me sembra che dalle riportate storie risulti che le iniezioni di lecitina « Merck » nell'olio di vasellina, in un primo periodo di tempo (circa 2-4 mesi — durante i quali si fanno circa trenta iniezioni —) producono soltanto qualche

raro ascesso, ma che successivamente facilitano gli aborti e determinano una maggiore quantità di ascessi. (V. Memoria del Russo sopra citata pag. 372).

È l'olio di vasellina, od è la lecitina la causa di tali fenomeni? Poichè la lecitina posta in commercio facilmente si decompone dando luogo a colina, non possiamo sospettare un'azione nociva da parte di quest'ultima?

Da prima io avevo creduto che il reperto negli uteri di embrioni morti, fosse esclusivo delle coniglie sottoposte alle iniezioni; ma poi, avendo a mia disposizione una coniglia (11 *b* del quadro n. 1) che sin dal 25 ottobre 1907 mi dava costantemente in ogni parto 4 nati, ho voluto vedere se qualche cosa di simile non si verificasse nelle coniglie non sottoposte alle iniezioni. Il 15 aprile 1908, sapendo che al domani doveva partorire, mi decisi ad ucciderla. Esaminati gli uteri, ho verificato che quello di destra non conteneva alcun feto maturo, ma una gran quantità di embrioni morti più o meno piccoli, che mi riservo di sottoporre all'esame istologico. Nell'utero sinistro poi, eranvi tre individui perfettamente sviluppati, di cui due di sesso femminile ed uno di sesso maschile, ed inoltre altri embrioni come quelli dell'utero destro, ma in numero molto minore. Si noti che questa coniglia in nove parti consecutivi diede soltanto 42 nati, di cui 16 maschi e 26 femmine; in ogni singolo parto quindi una cifra di figli inferiore alla media (6-7 secondo Licciardelli), con una percentuale di maschi di circa 38 %. E poichè nelle coniglie non sottoposte alle iniezioni la percentuale dei maschi varia, secondo la mia statistica, tra il 50 ed il 52 %, credo poterne desumere che *negli uteri della suddetta coniglia* (11-*b*) *devono essere morti a preferenza embrioni di sesso maschile.*

Del resto, che anche negli uteri di coniglie non sottoposte alle iniezioni muoiano degli embrioni, risulta pure da due altre osservazioni da me fatte nelle coniglie n. 5 e n. 8 del quadro n. 1, le quali partorirono constantemente molti figli. La coniglia n. 8 uccisa dopo il parto (12 figli) aveva negli uteri due embrioni morti abbastanza piccoli. La coniglia n. 5 uccisa anch'essa, dopo aver partorito (7 figli), presentò negli uteri 7 embrioni morti, tutti più o meno piccoli.

L'ammettere che gli embrioni morti negli uteri si devono ritenere in generale « a preferenza di sesso maschile », non è cosa tanto strana quanto può sembrare a tutta prima. Infatti il Bodio ha potuto osservare per l'uomo, che in Italia, per ogni 100 femmine nate vive, nascono vivi 105,8 maschi, e, per ogni 100 femmine nate morte, nascono morti 131,1 maschi: ed in Francia quest'ultima cifra arriva a 142,2. Il Rauber ed il Lenhossèk, da uno studio di embrioni umani provenienti da aborti arrivarono a stabilire che, per ogni 100 di sesso femminile, se ne trovano 160 di sesso maschile. Secondo il Goelert poi, nel cavallo per ogni 100 femmine nascono vivi 96,57 maschi,

mentre ne nascono morti 106,5. Anche il Russo ha constatato che nelle coniglie i nati morti sono a preferenza di sesso maschile.

Riunendo tutt'assieme si può dire che il numero delle femmine e dei maschi partoriti vivi dalle coniglie è notevolmente inferiore a quello dei germi che si producono e, senza tener conto di questi e senza determinarne il sesso — ciò che finora non è stato fatto e non si sa se e quanto sia fattibile — non è possibile dare una percentuale esatta degli individui di sesso maschile e di sesso femminile procreati dalle coniglie. Fin d'ora è lecito però ritenere che si procrei un numero di maschi ben maggiore di quello che risulta dalla statistica dei nati vivi.

Passo ad esaminare i dati che ottenni dalle coniglie non sottoposte alle iniezioni. I parti sono 60, tutti quelli, cioè, ottenuti da 9 coniglie nel periodo di un anno circa.

Quadro N. 1.

Coniglia	n. 4	- Dal 23 luglio	1907	al 13 aprile	1908.	Parti	5.	Nati	34 = 17 ♂ + 17 ♀
»	» 5	- Dal 1° settemb.	»	al 16 »	»	»	5	»	36 = 23 ♂ + 13 ♀
»	» 8	- Dall'11 giugno	»	al 16 »	»	»	9	»	90 = 53 ♂ + 37 ♀
»	» 9	- Dal 2 maggio	»	al 4 »	»	»	10	»	70 = 42 ♂ + 28 ♀
»	» 10	- Dal 15 aprile	»	al 30 marzo	»	»	10	»	64 = 33 ♂ + 31 ♀
»	» 11 *a*	- Dal 6 giugno	»	al 5 sett.	1907	»	4	»	28 = 8 ♂ + 20 ♀
»	» 11 *b*	- Dal 9 luglio	»	al 16 aprile	1908	»	9	»	42 = 16 ♂ + 26 ♀
»	» 12	- Dall'11 giugno	»	al 12 »	»	»	6	»	58 = 27 ♂ + 31 ♀
»	» 13 *b*	- Dal 24 febbraio	1908	al 25 marzo	»	»	2	»	18 = 6 ♂ + 12 ♀
						Somma	60	Nati	440 = 225 ♂ + 215 ♀

Su 440 nati vivi (non si ebbero mai nati morti!) in 60 parti, si hanno dunque 225 maschi e 215 femmine: una percentuale quindi di 51,14 maschi per 100 nati vivi.

Ed ecco ora i dati statistici dei nati vivi, maschi e femmine, ottenuti dalle coniglie sottoposte alle iniezioni. Degli embrioni (in tutto cinque) che son venuti alla luce, dei quali finora non ho potuto determinare il sesso, non tengo conto.

Quadro N. 2.

Coniglia	n. 1. -	18 gennaio 1908:	figli	8 = 3 ♂ + 5 ♀	
		21 marzo »	»	11 = 9 ♂ + 2 ♀	
		23 aprile »	»	9 = 4 ♂ + 5 ♀	in tutto figli 28 = 16 ♂ + 12 ♀
»	n. 2. -	12 giugno 1907	»	7 = 3 ♂ + 4 ♀	
		12 novembre »	»	4 = 3 ♂ + 1 ♀	
		12 febbraio 1908	»	7 = 4 ♂ + 3 ♀	
		20 marzo »	»	7 = 5 ♂ + 2 ♀	in tutto figli 25 = 15 ♂ + 10 ♀
»	n. 3. -	13 giugno 1907	»	4 = 1 ♂ + 3 ♀	
		11 ottobre »	»	4 = 2 ♂ + 2 ♀	
		29 marzo 1908	»	2 = 1 ♂ + 1 ♀	in tutto figli 10 = 4 ♂ + 6 ♀

Conigli n. 6. -	13 gennaio	»	»	5 =	2 ♂ +	3 ♀		
	21 marzo	»	»	9 =	6 ♂ +	3 ♀	in tutto figli 14 =	8 ♂ + 6 ♀
» n. 7. -	14 febbraio	»	»	7 =	4 ♂ +	3 ♀		
	17 marzo	»	»	8 =	4 ♂ +	4 ♀		
	19 aprile	»	»	8 =	4 ♂ +	4 ♀	in tutto figli 23 =	12 ♂ + 11 ♀
» n. 14. -	29 febbraio	»	»	7 =	3 ♂ +	4 ♀		
	19 aprile	»	»	10 =	8 ♂ +	2 ♀	in tutto figli 17 =	11 ♂ + 6 ♀
							117	66 51

Su 117 nati in 17 parti si hanno 66 maschi e 51 femmine; una percentuale adunque di 56,41 di maschi per ogni 100 nati vivi. I cinque embrioni di sesso indeterminato, di cui ho fatto cenno più sopra, non possono mutare sensibilmente questa percentuale.

Riconosco subito che il numero dei parti, sinora da me ottenuti dalle coniglie sottoposte alle iniezioni, è stato troppo piccolo; ciò nonostante credo di poter fare alcune considerazioni.

Io ho ottenuto nelle coniglie lecitinate una percentuale di maschi maggiore che in quelle normali. Come si spiega questo fatto? Osservo anzitutto che i dati statistici da me messi al riscontro non sono omogenei, perchè, mentre le coniglie normali avevano già tutte avute il primo parto (tranne il n. 5 e il n. 13 *b*), delle coniglie sottoposte alle iniezioni invece solo quelle del n. 2 e del n. 3, se ben si ricorda, avevano già partorito. Ora, siccome le coniglie primipare, come ha notato il Russo, dànno un maggior numero di maschi, ci spieghiamo fino ad un certo punto l'aumento della percentuale di questi. In ogni caso poi, nel primo periodo di tempo (2-3 mesi) la lecitina non sembra agire sul sesso, almeno per quanto dimostra la storia delle coniglie nn. 1, 6, 14 al Quadro n. 2.

Dei dati statistici da me ottenuti da coniglie non sottoposte alle iniezioni mi giovo anche per spiegare come, man mano che il numero dei nati in un singolo parto diventa minore, vada diminuendo la proporzione dei maschi. Riporto il seguente

QUADRO N. 3.

Numero complessivo dei figli: 440

Parti in cui il numero dei figli è da	Numero dei figli			Percentuale dei maschi per 100 nati vivi
10	in su	— 138 = 82 ♂ + 56 ♀		59,42
9	in giù	— 302 = 143 ♂ + 159 ♀		47,35
8	»	— 275 = 132 ♂ + 143 ♀		48,00
7	»	— 187 = 98 ♂ + 89 ♀		52,40
6	»	— 96 = 46 ♂ + 50 ♀		47,91
5	»	— 48 = 20 ♂ + 28 ♀		41,69
4	»	— 33 = 12 ♂ + 21 ♀		36,36

Nella categoria dei parti dove i figli sono 10 o più, il numero dei maschi è in massima preponderanza sul numero delle femmine; orbene, in questo caso,

ci troviamo nelle condizioni più opportune per determinare la percentuale dei germi maschili e femminili, essendo lecito indurre, da quel che sopra ho detto, che tanto minore è il numero dei germi che muoiono, quanto maggiore è il numero dei figli che la coniglia partorisce. Con questa supposizione armonizza la discesa della percentuale dei maschi, man mano che diminuisce il numero dei neonati per ogni parto, come si rileva facilmente dal prospetto qui sopra riportato. Si potrebbe osservare che la discesa non è però sempre graduale. Infatti, nella categoria dei parti di 8 e 9 figli, di un tratto si nota una forte diminuzione della percentuale dei maschi; ciò è dovuto molto probabilmente alla circostanza che di parti di 8 e 9 figli ne ho ottenuti pochissimi, e per caso in essi il numero dei maschi è abbastanza esiguo.

Il fenomeno da me rilevato che negli uteri di coniglie normali muoiono embrioni, i quali devono esser giudicati a preferenza di sesso maschile, trova anche conferma nello specchietto da me compilato sui dati statistici del Russo per le coniglie normali.

Rispetto a questi dati è d'uopo premettere che essi non possono considerarsi come assoluti, perchè l'Autore ha scelto per compilare il suo prospetto *« i casi più comuni ed estremi, sia per il numero dei piccoli nelle singole nidiate, sia per ciò che riguarda il loro sesso »*.

Quadro N. 4.

Numero complessivo dei figli: 687.

Parti in cui il numero dei figli è da	Numero dei figli	Percentuale dei maschi per 100 nati vivi
10 in su	— 148 = 88 ♂ + 60 ♀	59,46
9 in giù	— 539 = 312 ♂ + 227 ♀	58,07
8 »	— 485 = 283 ♂ + 202 ♀	58,57
7 »	— 333 = 197 ♂ + 136 ♀	59,15
6 »	— 249 = 144 ♂ + 105 ♀	57,83
5 »	— 147 = 79 ♂ + 68 ♀	53,74
4 »	— 42 = 19 ♂ + 23 ♀	45,23

Il brusco innalzamento della percentuale dei maschi nella categoria di quei parti, in cui il numero dei nati è da 7 in giù, è dovuto forse alla circostanza che ai numeri 5 e 55 del quadro presentato dal Russo si notano due parti eccezionali di soli 7 maschi senza alcuna femmina. Per il resto di questo quadro n. 4 valgano in generale le stesse osservazioni che ho fatto per la mia statistica (al quadro n. 3). Farò soltanto rilevare che nei parti di 10 figli e più la percentuale dei maschi data dal Russo (59,46 %) coincide con quella da me ottenuta (59,42 %) e quindi, come ho detto precedentemente e come risulta da tutta questa nota, sono questi parti numerosi quelli che meglio si prestano per determinare la percentuale dei maschi.

Riporto ora nel quadro n. 5 i dati del Russo riferentisi alle coniglie lecitinate, raggruppati come nel quadro n. 4. Neppure in questo caso essi possono considerarsi come assoluti, perchè il Russo stesso premette, in una nota al relativo prospetto, che si giova di quei casi « *in cui le femmine han superato i maschi* ».

QUADRO N. 5.

Numero complessivo dei figli: 648.

Parti in cui il numero dei figli è da	Numero dei figli	Percentuale dei maschi per 100 nati vivi
10 in su	— 101 = 41 ♂ + 60 ♀	40,59
9 in giù	— 544 = 173 ♂ + 371 ♀	31,80
8 »	— 481 = 151 ♂ + 330 ♀	31,39
7 »	— 345 = 104 ♂ + 241 ♀	30.14
6 »	— 247 = 71 ♂ + 176 ♀	28,70
5 »	— 163 = 44 ♂ + 119 ♀	27,00
4 »	— 73 = 18 ♂ + 55 ♀	24,66

Non entrerò in altri particolari. ma farò soltanto rilevare che nei conigli normali la percentuale media dei maschi, secondo la statistica del Russo, è di 58,22 per cento.

Questa percentuale subirebbe soltanto la diminuzione di 18 circa nei parti di un numero di figli superiore a 10, mentre subirebbe una diminuzione di 34 circa nei parti di un numero di figli, che sia o quattro, o un numero a questo inferiore. Poichè la percentuale media dei maschi che io ottengo normalmente è, invece che di 58,22, soltanto di 51,14 per cento, se la mia statistica, come io credo, ha veramente valore, in ogni caso nelle esperienze del Russo la diminuzione del numero dei maschi dovrebbe ritenersi notevolmente minore.

Resta sempre però una notevole diminuzione delle percentuali dei maschi nelle coniglie lecitinate; questa si spiega in parte con la circostanza che, come si è detto, il Russo non ha riportato che i casi favorevoli alla sua tesi, in parte poi colle seguenti considerazioni.

In linea generale io tendo ad ammettere che nelle coniglie iniettate colla lecitina Merck in olio di vasellina, muoia un maggiore numero di embrioni — e di essi a preferenza quelli di sesso maschile, — che non nelle coniglie normali.

Che muoia un maggiore numero di embrioni mi sembra risultare dal complesso dei fatti esposti. È vero che a 100 parti di coniglie lecitinate il Russo riferisce 648 figli (217 ♂ + 431 ♀ con una percentuale di 33,48 per cento di maschi) ed a 100 parti di coniglie non sottoposte alle iniezioni ne riferisce 687 (400 ♂ + 287 ♀ con una percentuale di 58.22 per cento di maschi); ma io ritengo quest'ultima cifra suscettibile di notevole aumento.

Infatti, su 60 parti io ottengo 440 nati (225 ♂ + 215 ♀ con una percentuale di 51,14 per cento di maschi); proporzionatamente perciò su 100 parti potrei ottenere circa 800 nati, cifra che supererebbe di ben 152 quella ottenuta dal Russo nelle coniglie lecitinate (648)!

Che poi gli embrioni morti debbano considerarsi a preferenza di sesso maschile, risulta molto probabile dopo i fatti da me osservati, avvalorati dai dati statistici sopra richiamati.

Confesso però che per valutare la forte differenza del numero dei nati dalle coniglie normali, esistente fra i dati del Russo ed i miei, bisognerebbe tener conto anche di varii altri fattori, quali l'età, la razza delle coniglie, le varie condizioni di ambiente, il modo di nutrizione, ecc.

Si noti che alla compilazione della statistica del Russo hanno contribuito dati staccati e saltuarî, raccolti da parti di coniglie, talora provenienti dalla campagna, talora viventi in conigliere d'allevamento; mentre i parti da me registrati sono in complesso regolarmente successivi, e si sono avuti da 9 sole coniglie, tenute tutte nelle stesse condizioni d'ambiente. Che, poi, l'ambiente e la razza abbiano una grande influenza, risulta dal fatto che, mentre le coniglie allo stato selvaggio non fanno generalmente che 4-6 piccoli (secondo Robert Müller), quelle allo stato domestico arrivano a dare nidiate di ben 14 nati!

Questo fatto deve essere messo in relazione con un altro da me desunto dalle statistiche dello stesso Russo, il quale, per cento parti di coniglie normali, ne registra uno solo con 6 femmine, mentre negli altri le femmine non sono più di 5. Tra le coniglie da lui lecitinate, invece, sono frequenti i parti in cui il numero delle femmine è di 6-7-8 (cifra che si riscontra però anche nei parti delle coniglie normali da me osservati).

In sostanza finora a me sembra che, per effetto della lecitina in sè stessa, la quale migliora le condizioni generali dell'organismo, possa crescere la prolificità delle coniglie e che, per l'azione funesta di eventuali composti, o estranei alla lecitina, o formantisi per decomposizione di questa, venga a morire un maggior numero di germi e, s'intende sempre, a preferenza di sesso maschile.

Riguardo alle iniezioni di lecitina, come mezzo per fissare, nella prima generazione degli incroci, le varietà recenti, le mie sperienze per ora sono insufficienti. Nelle coniglie normali, d'accordo col Russo, non sempre trovo che i nati di prima generazione da un grigio e da una albina abbiano caratteri di colore puramente paterno; aggiungo che anche da due grigi nacquero individui albini. Pur riserbandomi di fare gli incroci colle stesse razze usate dal Russo, a me sembra fin d'ora che quelle stesse considerazioni, le quali mi conducono a ritenere non dimostrata l'inversione della

proporzione fra i due sessi, rendano incerto anche il cambiamento nei caratteri del colore dei figli per effetto delle iniezioni di lecitina.

Riassumendo brevemente le risultanze attuali delle mie osservazioni, credo di poter formulare le seguenti conclusioni:

1) che la statistica delle nascite dalle coniglie non sempre rappresenta il numero complessivo dei germi che si formano negli uteri nè quindi può precisare quanti germi appartengano all'uno ed all'altro sesso, perchè molti di questi, tanto nelle coniglie normali quanto nelle lecitinate, son soggetti a morire precocemente negli uteri stessi;

2) che le iniezioni di lecitina nelle coniglie da me sottoposte ad esperimento non hanno finora aumentato la percentuale dei neonati di sesso femminile (17 parti con 117 figli: 66 ♂ + 51 ♀);

3) che la lecitina « Merck » iniettata coll'olio di vasellina finisce per produrre ascessi e aborti molto probabilmente aumenta negli uteri la morte di giovani germi;

4) che dei germi che muoiono si deve complessivamente ritenere prevalente il numero di quelli di sesso maschile;

5) che probabilmente la lecitina, migliorando le condizioni generali dell'organismo, aumenta la prolificità delle coniglie.

Debbo perciò infine dichiarare come, pur riconoscendo che il Russo abbia avuto il grande merito di aprire una nuova via di indagini alla zoologia sperimentale, le mie ricerche non mi permettono di ritenere dimostrata nè l'inversione della proporzione fra i due sessi nè la contravvenzione alle leggi mendeliane, per effetto delle iniezioni di lecitina.

Anzi, io ritengo che, ove pure si riuscisse, determinando il sesso dei germi che vanno morendo negli uteri, a scoprire nelle coniglie lecitinate, la prevalenza dei germi fecondati di sesso femminile, potrebbe sempre affacciarsi il sospetto che ciò dipenda dal verificarsi, non già dell'inversione dei sessi, sibbene della degenerazione di uova ancora nell'ovario, ed a preferenza di quelle presumibilmente destinate a produrre maschi.

Biologia. — *Sopra alcune esperienze di ibridazione della vite.* Nota I del dottor Clemente Grimaldi, presentata dal Socio B. Grassi.

Sono venti anni da che cominciai a dedicarmi all'ibridazione della vite, che ha formato oggetto di alcune precedenti pubblicazioni (1).

Le ibridazionî che ho fatto ed ho riuscito ottenendone da 1 a 200 e più individui per ogni ibridazione, sono 207 sopra 235 fatte.

Esse sono segnate nel seguente elenco (2):

1889.	Ibridazione	II	Calabrese × Rupestris-Cordifolia (I. M. 107).
»	»	III	Calabrese × Azemar.
1890.	»	VII	Calabrese × Rupestris-Cordifolia (I. M. 107).
»	»	VIII	Calabrese × Azemar.
»	»	IX	Catarratto bianco × Cordif.-Rup. de Grasset.
»	»	XII	Frappato × Rupestris-Cordifolia (I. M. 107).
1892.	»	XIII	Frappato × Rupestris Martin.
»	»	XIV	Frappato × Rupestris Ganzin.
»	»	XV	Catarratto bianco × Rupestris Ganzin.
»	»	XVII	Calabrese × Berlandieri.
»	»	XVIII	Calabrese × Rupestris Ganzin.
»	»	XIX	Berlandieri × Calabrese.
»	»	XX	Calabrese × Rupestris Martin.
»	»	XXI	Calabrese × Cordifolia.

(1) C. Grimaldi, *Sull'ibridazione delle viti americane.* Milano, 1890. — *Qual'è la via più sicura per risolvere la quistione fillosserica.* Casale, 1893. — *Sopra alcune esperienze di ibridazione tra viti americane e viti siciliane.* Casale, 1893. — *Nota illustrativa degli ibridi di viti americane.* Palermo, 1898. — *Sur la réconstitution des terrains secs par les hybrides.* Lyon, 1902. — *Sopra i risultati dell'ibridazione della vite.* Roma, 1903. — *Illustrazione degli ibridi di viti americane da lui ottenuti,* I. G. 88. Palermo, 1903. — I. G. 50. Palermo, 1903. — I. G. 125. Palermo, 1904. — I. G. 110. Palermo, 1904. — I. G. 791. Palermo, 1906. — *Porta innesti e produttori diretti di viti americane.* Palermo, 1906. — *Una esperienza di porta-innesti in terreno calcare.* Palermo, 1907. — *Sui vini di ibridi Grimaldi.* Palermo, 1907. — A. Millardet, *Saggio sull'ibridazione della vite.* Traduzione con note ed aggiunte di C. Grimaldi. Torino, Palermo, 1893.

(2) Il segno × equivale a « fecondato da ». La cifra ROMANA indica la « ibridazione », dalla quale si ricava un numero variabile di individui; ogni individuo ibrido selezionato e studiato viene contradistinto con le iniziali I. G. (Ibrido Grimaldi) seguìto da una cifra « araba » che individualizza l'ibrido; il tutto chiuso da parentesi.

1892.	Ibridazione	XXII	Catarratto bianco × Cordif.-Rup. de Ieager.
»	»	XXIV	Calabrese × Cordifolia-Rupestris de Grasset.
»	»	XXV	Berlandieri × Rupestris Martin.
»	»	XXVI	Berlandieri × Frappato.
»	»	XXVII	Catarratto bianco × Cordifolia.
»	»	XXIX	Frappato × Riparia (fertile).
»	»	XXX	Frappato × Cordifolia-Rupestris de Ieager.
»	»	XXXI	Frappato × Riparia (sterile).
»	»	XXXII	Frappato × Azemar.
»	»	XXXIII	Frappato × Cordifolia.
»	»	XXXIV	Frappato × Cordifolia-Rupestris de Grasset.
1893.	»	XXXV	Frappato × Riparia (fertile).
»	»	XXXVI	Frappato × Riparia (sterile).
»	»	XXXVII	Frappato × Rupestsis-Cordifolia (I. M. 107).
»	»	XXXVIII	Frappato × Riparia-Rupestris (C. 3309).
»	»	XXXIX bis	Frappato × Rupestris Ganzin.
»	»	XL	Frappato × Riparia-Rupestris (C. 3309).
»	»	XLI	Calabrese × Cordifolia-Rupestris de Ieager.
»	»	XLII	Calabrese × Rupestris-Aestivalis.
»	»	XLIII	Calabrese × York-Madeira.
»	»	XLIV	Albanello × Rupestris Ganzin.
»	»	XLVI	Zibibbo × Rupestris Ganzin.
»	»	XLVII	Zibibbo × Azemar.
»	»	XLVIII	Zibibbo × Rupestris-Cordifolia (I. M. 107).
»	»	XLIX	Berlandieri × Tremano.
»	»	L	Berlandieri × Rupestris Ganzin.
1894.	»	LII	Frappato × Gamay Couderc.
»	»	LIII	Catarratto bianco × Rupestris Ganzin.
»	»	LIV	Calabrese × Aramon-Rupestris Ganzin.
»	»	LV	Calabrese × Rupestris-Petit Bouschet.
»	»	LVI	Frappato × Aramon-Rupestris Ganzin.
»	»	LVII	Calabrese × Gamay Couderc.
»	»	LVIII	Uva di Troja × Rupestris Ganzin.
»	»	LX	Catarratto bianco × Rupestris Martin.
»	»	LXII	Castagnola × Berlandieri (sterile).
»	»	LXIII	Berlandieri × Catarratto bianco.
»	»	LXIV	Berlandieri × Ricanico.
»	»	LXV	Berlandieri × Brefano.
»	»	LXVII	Zibibbo × Cordifolia-Rupestris de Ieager.
»	»	LXVIII	Berlandieri × Corniola.
»	»	LXX	Berlandieri × Sconosciuto.
»	»	LXXI	Cinerea × Sconosciuto.

1895.	Ibridazione	LXXII	Vernaccia × Rupestris Ganzin.
»	»	LXXIII	Fresia × Cabernet-Rup. Ganzin (I. M. 33 A.).
»	»	LXXV	Uva di Troja × Azemar.
»	»	LXXVI	Gerosolimitano nero × Aram.-Rup. (I. M. 143 A.).
1896.	»	LXXVII	Rup. × Calabrese-Rup. Ganzin (I. G. 104).
»	»	LXXVIII	Frappato × Calabr.-Rup. Ganzin (I. G. 104).
»	»	LXXIX	Calabr. × Calabr.-Rup. Ganzin (I. G. 108).
»	»	LXXX	Berlandieri Resseguier N. 2 × Rup. Monticola.
»	»	LXXXI	Berlandieri × Resseguier N. 2 × Aramon-Rupestris Ganzin.
1901.	»	LXXXII	Ibrido Seibel N. 1 × Frappato-Rupestris Ganzin (I. G. 317).
»	»	LXXXIII	Ibrido Seibel N. 1 × Calabrese-Rupestris Ganzin (I. G. 88).
»	»	LXXXIV	Chasselas rose-Rup. (C. 4401) × Calabrese.
»	»	LXXXV	Chasselas rose-Rup. (C. 4401) × Calabrese-Rupestris Ganzin (I. G. 97).
»	»	LXXXVI	Calabrese-Rup. Ganzin (I. G. 88) × Calabr.
»	»	LXXXVII	Calabrese-Rup. Ganzin (I. G. 88) × Frappato.
»	»	LXXXVIII	Calabr.-Azemar (I. G. 50) × Ibrido Trenquier.
»	»	LXXXIX	Calabr.-Rupestris Ganzin (I. G. 97) × Ibrido Seibel, N. 29.
»	»	XC	Calabr. Rup. Ganzin (I. G. 97) × Calabrese.
»	»	XCIII	Auxerrois-Rupestris × Calabrese-Aramon-Rupestris Ganzin (I. G. 953).
»	»	XCIV	Auxerrois-Rupestris × Calabrese-Aramon-Rupestris Ganzin (I. G. 929).
»	»	XCV	Catarratto bianco-Rup. Ganzin (I. G. 427) × Catarratto bianco.
»	»	XCVI	Calabrese-Aramon-Rup. Ganzin (I. G. 929) × Ibrido complesso (C. 132-11).
»	»	XCVII	Frappato-Rupestris Ganzin (I. G. 317) × Calabrese.
»	»	C	Calabrese × Calabrese-Rup. Martin (I. G. 125).
»	»	CI	Catarratto bianco × Calabrese-Rup. Martin (I. G. 125).
»	»	CII	Catarratto bianco × Uva di Troia-Rupestris Ganzin (I. G. 1131).
»	»	CIII	Calabrese × Calabrese-Rup. Ganzin (I. G. 109).
»	»	CIV	Catarratto bianco × Catarratto bianco-Cordifolia-Rupestris de Iaeger (I. G. 419).

1901.	Ibridazione	CV	Catarratto bianco × Rup. da seme (C. 81-2).
»	»	CVI	Catarratto bianco × Auxerrois-Rupestris.
»	»	CVII	Catarratto bianco-Cordifolia-Rup. de Ieager (I. G. 419) × Zibibbo.
»	»	CVIII	Catarratto bianco-Cordifolia-Rup. de Ieager (I. G. 419) × Aramon-Rup.-Ganzin.
»	»	CIX	Ricanico × Carignan-Rupestris (C. 404).
»	»	CX	Ricanico × Aramon-Rupestris-Ganzin.
»	»	CXI	Calabrese × Berlandieri-Riparia (M. 420 A.).
»	»	CXII	Frappato × Berlandieri-Riparia (C. 157-11).
1902.	»	CXIII	Calabrese × Calabrese-Rup. Ganzin (I. G. 88).
»	»	CXIV	Auxerrois-Rupestris × Calabrese-Rupestris Ganzin (I. G. 97).
»	»	CXV	Auxerrois-Rupestris × Frappato.
»	»	CXVI	Moscatella × Frappato-Rup. Ganzin (I. G. 553).
»	»	CXVII	Moscatella-Catarratto bianco-Rupestris Ganzin (I. G. 427).
»	»	CXVIII	Calabrese-Aramon-Rup. Ganzin (I. G. 929) × Rupestris da seme (C. 81-2).
»	»	CXIX	Francescana × Calabrese-Rupestris Ganzin (I. G. 88).
»	»	CXX	Ibrido Seibel N. 29 × Calabrese-Rupestris Ganzin (I. G. 88).
»	»	CXXI	Ibrido Seibel N. 2 × Calabrese-Rup. Ganzin (I. G. 88).
»	»	CXXII	Ricanico × Calabrese-Cordifolia (I. G. 409).
»	»	CXXIII	Ricanico × Berlandieri Resseguier N. 2-Aramon-Rupestris Ganzin (I. G. 470).
»	»	CXXIV	Tutto l'anno × Berlandieri Resseguier N. 2-Rupestris Monticola (I. G. 444).
»	»	CXXV	Barbarossa × Auxerrois Rupestris.
»	»	CXXVI	Cento rotoli × Calabrese Rupestris Ganzin (I. G. 88).
»	»	CXXVII	Ibrido Seibel N. 156 × Auxerrois-Rupestris.
»	»	CXXVIII	Ibrido Seibel N. 1 × Calabrese-Aramon Rupestris Ganzin (I. G. 974).
»	»	CXXIX	Ciciredda × Rup.-Berlandieri (M. 219 A.).
»	»	CXXX	Ciciredda × Berlandieri Resseguier N. 2-Aramon-Rupestris Ganzin (I. G. 48).
1903.	»	CXXXI	Alicante-Rupestris-Terras N. 20 × Calabrese-Rupestris Ganzin (I. G. 125).
»	»	CXXXII	Calabrese-Rupestris Ganzin (I. G. 88) × Auxerrois-Rupestris.

1993.	Ibridazione	CXXXIII	Ibrido Fournier × Frappato-Rupestris Ganzin (I. G. 553).
»	»	CXXXIV	Auxerrois-Rup. × Carignan-Rup. (C. 404).
»	»	CXXXV	Auxerrois-Rup. × Frappato-Rupestris Ganzin (I. G. 317).
»	»	CXXXVI	Calabrese-Rupestris Ganzin (I. G. 88) × Berlandieri-Riparia (E. M. 34).
»	»	CXXXVII	Frappato-Rupestris Ganzin (I. G. 553) × Tre quarti vinifera (241-125).
»	»	CXXXVIII	Calabrese-Rupestris Ganzin (I. G. 97) × Tre quarti vinifera (C. 82-12).
»	»	CXXXIX	Ibrido Trenquier × Calabrese-Gamay Couderc (I. G. 1109).
»	»	CXXXX	Frappato-Rupestris Ganzin (I. G. 553) × Ibrido Seibel N. 2003).
»	»	CXXXXI	Calabrese-Rupestris Ganzin (I. G. 97) × Tre quarti vinifera (C. 241-125).
»	»	CXXXXII	Carignan-Rupestris (C. 404) × Tre quarti vinifera (C. 226-58).
»	»	CXXXXIII	Carignan-Rupestris (C. 404) × Tre quarti vinifera (C. 82-32).
»	»	CXXXXIV	Tre quarti vinifera (C. 241-125) × Calabrese-Rupestris Ganzin (I. G. 97).
»	»	CXXXXV	Calabrese-Rupestris Ganzin (I. G. 97) × Ibrido Castel (20-424).
»	»	CXXXXVI	Calabrese-Gamay Couderc (I. G. 1109) × Tre quarti vinifera (C. 241-125).
»	»	CXXXXVIII	Berlandieri-Rupestris (I. G. 447) × Rupestris da seme (C. 81-2).
»	»	CXXXXIX	Calabrese-Rup. Ganzin (I. G. 88) × Berlandieri-Rupestris (I. G. 441).
»	»	CL	Calabrese-Aramon-Rup. Ganzin (I. G. 929) × Carignan Rupestris (C. 404).
»	»	CLI	Calabrese-Aramon-Rup. Ganzin (I. G. 940) × Tre quarti vinifera (C. 82-12).
»	»	CLII	Calabrese × Berlandieri-Rupestris (I. G. 444).
»	»	CLIV	Inzolia × Catarratto bianco-Rupestris Ganzin (I. G. 427).
»	»	CLVI	Moscatella × Frappato-Rup. Ganzin (I. G. 317).
»	»	CLVII	Ciciredda × Berlandieri-Rupestris (I. G. 446).
»	»	CLVIII	Barbarossa × Frappato-Rup. Ganzin (I. G. 317).
»	»	CLIX	Ricanico × Carignan-Rupestris (C. 404).

1903.	Ibridazione	CLX	Ricanico × Catarratto bianco-Rup. Ganzin (I. G. 427).
»	»	CLXI	Albanello×Calabrese-Rup. Martin (I.G. 125).
»	»	CLXII	Chasselas-Berlandieri (M. 41 B.) × Berlandieri-Riparia (E. M. 34).
»	»	CLXIII	Chasselas-Berlandieri (M. 41 B.) × Berlandieri-Rupestris (I. G. 444).
»	»	CLXIV	Chasselas-Berlandieri (M. 41 B.) × Berlandieri-Aramon-Rup. Ganzin (I. G. 470).
»	»	CLXV	Gerosolimitano bianco × Carignan-Rupestris (C. 404).
»	»	CLXVI	Inzolia × Mourvèdre-Rupestris (C. 1202).
»	»	CLXVII	Gerosolimitano nero × Uva di Troia-Rup. Ganzin (I. G. 1135).
»	»	CLXVIII	Berlandieri-Frappato (I. G. 525) × Rup.-Berlandieri (M. 219 A.).
»	»	CLXIX	Berlandieri-Regano (I. G. 1257) × Berlandieri-Riparia (M. 420 A.).
»	»	CLXX	Berlandieri-Tremano (I. G. 722) × Berlandieri-Aramon-Rup. Ganzin (I. G. 480).
1904.	»	CLXXI	Frappato-Rupestris Ganzin (I. G. 317) × Tre quarti vinifera (C. 241-125).
»	»	CLXXII	Frappato-Rupestris Ganzin (I. G. 317) × Rupestris da seme (C. 81-2).
»	»	CLXXIII	Frappato-Rupestris Ganzin (I. G. 317) × Catarratto bianco.
»	»	CLXXIV	Frappato-Rupestris Ganzin (I. G. 317) × Tre quarti vinifera (C. 82-32).
»	»	CLXXV	Frappato-Rupestris Ganzin (I. G. 317) × Ibrido complesso (C. 262-14).
»	»	CLXXVI	Frappato-Rupestris Ganzin (I. G. 317) × Tre quarti vinifera (C. 124-20).
»	»	CLXXVII	Frappato-Rupestris Ganzin (I. G. 553) × Tre quarti vinifera (C. 124-20).
»	»	CLXXVIII	Frapp.-Rup. Ganzin (I. G. 553) × Calabrese.
»	»	CLXXIX	Frappato-Rupestris Ganzin (I. G. 553) × Tre quarti vinifera (C. 199-88).
»	»	CLXXX	Frappato-Rupestris Ganzin (I. G. 553) × Tre quarti vinifera (C. 241-125).
»	»	CLXXXI	Catarratto bianco-Rup. Ganzin (I. G. 427) × Tre quarti vinifera (C. 82-12).
»	»	CLXXXIII	Catarratto bianco-Rup. Ganzin (I. G. 427) × Catarratto bianco.

1904.	Ibridazione	CLXXXV	Calabrese-Gamay Couderc (I. G. 1109) × Catarratto bianco.
»	»	CLXXXVI	Calabrese-Gamay Couderc (I. G. 1109) × Tre quarti vinifera (C. 82-12).
»	»	CLXXXVII	Uva di Troia-Rup. Ganzin (I. G. 1132) × Tre quarti vinifera (C. 124-20).
»	»	CLXXXVIII	Uva di Troia-Rup. Ganzin (I. G. 1132) × Ibrido Seibel N. 2.
»	»	CLXXXIX	Uva di Troia-Rupestris Ganzin (I. G. 1132) × Tre quarti vinifera (C. 226-58).
»	»	CXC	Uva di Troia-Rupestris-Ganzin (I. G. 1132) × Ibrido complesso (C. 74-17).
»	»	CXCI	Uva di Troia-Rup. Ganzin (I. G. 1132) × Calabrese.
»	»	CXCII	Uva di Troia-Rup. Ganzin (I. G. 1132) × Frappato.
»	»	CXCIII	Calabrese-Aramon-Rup. Ganzin (I. G. 940) × Tre quarti vinifera (C. 124-20).
»	»	CXCIV	Calabrese-Aramon-Rup. Ganzin (I. G. 940) × Tre quarti vinifera (C. 82-32).
»	»	CXCVI	Ricanico × Aramon-Rupestris Ganzin.
»	»	CXCVII	Berlandieri-Tremano (I. G. 722) × Berlandieri-Aram.-Rup. Ganzin (I. G. 480).
»	»	CXCVIII	Berlandieri-Tremano (I. G. 722) × Rupestris da seme (C. 81-2).
»	»	CXCIX	Berlandieri-Tremano (I. G. 722) × Berlandieri-Rupestris (I. G. 446).
»	»	CC	Berlandieri-Tremano (I. G. 722) × Aramon-Rupestris Ganzin.
»	»	CCI	Berlandieri-Tremano (I. G. 722) × Berlandieri-Riparia (M. 420 A.).
»	»	CCIII	Berlandieri-Tremano (I. G. 722) × Berlandieri Riparia (C. 157-11).
1905.	»	CCIV	Ricanico × Calabr.-Rup. Martin (I. G. 125).
»	»	CCV	Ricanico × Rupestris Monticola.
»	»	CCVI	Carignan-Rup. (C. 404) × Frappato-Gamay Couderc (I. G. 854).
»	»	CCVIII	Frappato-Gamay Couderc (I. G. 854) × Carignan-Rupestris (C. 404).
»	»	CCIX	Ricanico × Cal.-Gamay Couderc (I. G. 1109).
»	»	CCX	Catarratto bianco × Calabrese-Rup. Ganzin (I. G. 88).

1905.	Ibridazione CCXI	Catarratto bianco × Frappato-Rup. Ganzin (I. G. 317).
»	» CCXII	Catarratto-bianco × Aramon-Rup. Ganzin.
1907.	» CCXIII	Calabrese-Rupestris Ganzin (I. G. 88) × Calabrese-Rup. Ganzin (I. G. 110).
»	» CCXIV	Calabr.Aramon-Rup. Ganzin (I. G. 940) × Calabr.-Ar.-Rup. Ganzin (I. G. 953).
»	» CCXV	Calabrese-Rupestris Ganzin (I. G. 110) × Calabrese-Rup. Ganzin (I. G. 88).
»	» CCXVI	Calabrese-Gamay Couderc (I. G. 1109) × Frappato-Gamay-Couderc (I. G. 854).
»	» CCXVII	Frappato-Gamay Couderc (I. G. 854) × Calabrese-Gamay Couderc (I. G. 1109).
»	» CCXVIII	Calabr.-Aramon-Rup. Ganzin (I. G. 935) × Calabr.-Ar.-Rup. Ganzin (I. G. 940).
»	» CCXIX	Frappato-Rupestris Ganzin (I. G. 317) × Frappato-Rup. Ganzin (I. G. 332).
»	» CCXX	Uva di Troia-Rup. Ganzin (I. G. 1132) × Calabr.-Ar.-Rup. Ganzin (I. G. 929).
»	» CCXXI	Calabr.-Aramon-Rup. Ganzin (I. G. 929) × Uva di Troia-Rup. Ganzin (I. G. 1132).
»	» CCXXII	Frappato-Rupestris Ganzin (I. G. 332) × Frappato-Rup. Ganzin (I. G. 317).
»	» CCXXIII	Berlandieri-Corniola (I. G. 1141) × Berlandieri-Brefano (I. G. 1290).
»	» CCXXIV	Berlandieri-Tremano (I. G. 722) × Berlandieri-Regano (I. G. 1257).
»	» CCXXV	Berlandieri-Tremano (I. G. 722) × Berlandieri-Rupestris (I. G. 446).
»	» CCXXVI	Chasselas-Berlandieri (M. 41 B.) × Berlandieri-Brefano (I. G. 1290).
»	» CCXXVII	Chasselas-Berlandieri (M. 41 B.) × Berlandieri-Regano (I. G. 1257).
»	» CCXXVIII	Chasselas-Berlandieri (M. 41 B.) × Berlandieri-Aramon-Rup. Ganzin (I. G. 480).
»	» CCXXIX	Berlandieri-Catarratto (I. G. 1195) × Berlandieri-Catarratto (I. G. 1198).
»	» CCXXX	Berlandieri-Catarratto (I. G. 1198) × Castagnola-Berlandieri (I. G. 1161).
»	» CCXXXI	Berlandieri-Regano (I. G. 1220) × Berlandieri-Corniola (I. G. 1150).
»	» CCXXXII	Berlandieri-Corniola (I. G. 1141) × Berlandieri-Brefano (I. G. 1316).

1907. Ibridazione CCXXXIII Berlandieri-Corniola (I. G. 1141) × Castagnola-Berlandieri (I. G. 1164).

» » CCXXXIV Berlandieri-Brefano (I. G. 1296) × Berlandieri-Regano (I. G. 1240).

» » CCXXXV Berlandieri-Regano (I. G. 1240) × Berlandieri-Regano (I. G. 1239).

Complessivamente ho seminato 14000 vinacciuoli, comprese le semine fatte quest'anno (1968 semi), ottenendone più di 4000 individui differenti fra di loro, escludendo in questo numero i nati e nascenti di quest'anno.

Per non oltrepassare i limiti imposti dal regolamento alle comunicazioni, rimando ad una Nota seguente l'indicazione dei criterii che mi hanno guidato nelle esperienze, ed un breve riassunto dei risultati ottenuti.

Fisiologia vegetale. — *Contribuzione allo studio della traspirazione nelle piante a foglie persistenti.* Nota preventiva del dott. Michele Puglisi, presentata dal Socio R. Pirotta.

Facendo sèguito allo studio che ho intrapreso da tempo intorno al processo di traspirazione nelle piante sempre verdi, dò qui notizia e riassumo i principali risultati delle nuove ricerche da me compiute su alcune *Lauracee*, negli anni 1904-1905.

Le specie assunte in esame sono le seguenti:

Laurus nobilis L., *Apollonias canariensis* Nees., *Persea indica* Spreng., *Persea gratissima* Gaertn., *Oreodafne californica* Nees., *Cinnamomum glanduliferum* Meissn., *Litsea* (*Tetranthera*) *japonica* Spreng.

Noto subito che tutte vegetano egregiamente nel R. Giardino Botanico di Roma, dove le esperienze furono compiute, e dove le condizioni climatologiche sono a un dipresso quelle della parte meridionale del bacino mediterraneo italiano, alla cui flora non appartiene, fra le specie testè elencate, che il solo Lauro comune (*Laurus nobilis* L.).

Le mie esperienze si seguirono fra l'ottobre e il luglio, quasi ininterrottamente, salvo brevi intervalli in quei periodi di transizione di stagione, durante i quali l'attività funzionale delle piante dimostra una relativa uniformità nel decorso. Tali parentesi non pregiudicano la continuità dell'osservazione, e lasciano ugualmente seguire il fenomeno in ogni tratto del periodo annuale, attraverso i tre punti critici cui la fisionomia di ogni curva funzionale è subordinata. Ho iniziato il mio lavoro con l'esame della struttura anatomica dei principali organi traspiranti, persuaso che ogni estrinsecazione della vita implica una correlazione con le proprietà morfologiche del soggetto che si prende a considerare.

Quanto ai mezzi di valutazione e di misura della traspirazione, mi servirono gli apparecchi di *Garrau*, i *potetometri* del tipo di *Moll* e di *Curtiss*

(quest'ultimo tipo da me opportunamente corretto e perfezionato), e i controlli con le carte reattive al cobalto (metodo di *Stahl*).

La seconda parte del lavoro di cui do qui notizia, concerne tutto ciò che si riferisce alle esperienze, e va distinta, dirò così, in tre capitoli, relativi ai tre periodi di tempo o stagioni in cui furono condotte le ricerche, ed in rapporto alle quali il fenomeno attinge i gradi d'intensità caratteristici della curva periodica annuale.

Nel breve commento che segue ai prospetti sperimentali, oltre all'analisi dei dati, dalla quale balza la fisionomia del fenomeno per la specie considerata, ho volta per volta registrato i particolari di maggior rilievo degni di speciale studio e considerazione. Così, in seguito alle esperienze con l'apparecchio di Garrau, potei notare che l'energia del processo traspiratorio aveva i suoi minimi tra la fine di dicembre e la prima metà del gennaio, e dei massimi relativi, nell'aprile o nel maggio. Nei mesi estivi, dalla seconda metà di giugno all'agosto, per alcune specie quell'attività decresceva sensibilmente, mentre per altre, come la *Persea indica*, l'*Oreodafne californica* e la *Litsea japonica*, si aveva un ulteriore incremento, tuttochè incospicuo ed impari alla cresciuta efficacia dei fattori atmosferici diretti ad esaltare la traspirazione.

Notai altresì che nel periodo invernale, quell'anno eccezionalmente rigido, anche sotto temperature inferiori allo zero del termometro centigrado, persino in atmosfera nebbiosa e agitata, le Lauracee in esame persistettero a traspirare, ed alcune, anzi, in una misura sorprendente ed apparentemente discorde coi caratteri anatomici degli organi traspiranti.

Altro fatto interessante manifestatosi nei risultati di questo primo ordine di esperienze, consiste in ciò: che i valori funzionali assoluti per la pagina fogliare superiore non variavano sempre, per una medesima specie e nelle diverse stagioni, in misura proporzionale al variare dei valori analoghi per la pagina inferiore dello stesso organo. Di più, e questo ci parve singolare, la curva periodica funzionale, coordinata, come accennammo, alle tre principali epoche o stagioni delle esperienze, non era possibile che per la traspirazione della pagina fogliare inferiore, poichè irregolarità non lievi menomavano, e per alcune specie smentivano decisamente, nel decorso del fenomeno in istudio, quel carattere, per la pagina fogliare superiore.

Dai risultati delle esperienze coi potetometri, compiute nel periodo invernale, ho rilevato che la eliminazione di acqua dalla pianta non cessò nella notte, e in alcuni casi anche a temperature inferiori allo zero termometrico, tali da indurre nelle prime ore antimeridiane fino il congelamento parziale dell'acqua nelle camere dei potetometri. Io ho ammesso che in siffatte circostanze le cellule di chiusura dell'apparecchio stomatico non godessero più della loro piena facoltà di regolazione coi noti fenomeni di

turgore, e che attraverso i loro meati invariabili lasciassero fluire pertanto il prodotto della limitata vaporizzazione interna del mesofillo. A confortare questa ipotesi però, sono indispensabili altre considerazioni; e per queste rimando al mio prossimo lavoro in esteso, non volendo, nella presente Nota, che semplicemente accennare ai fatti di maggior rilievo registrati.

I risultati sperimentali ottenuti in primavera sulle nostre Lauracee, accusano, nei riguardi della funzione traspiratoria, un incremento fortissimo sui dati del periodo invernale; e se si considera la cosa in rapporto all'efficacia degli agenti atmosferici e di speciali altre circostanze, si può affermare che la quota di traspirazione nel mese di aprile e nei primi di maggio abbia attinto un livello relativamente massimo.

Nella terza fase delle nostre ricerche, la quale si estende tra la metà di giugno e la fine di luglio, i valori della traspirazione infatti rivelarono ancora un progresso nell'intensità del fenomeno; ma tale guadagno fu molto tenue e certamente inadeguato alla cresciuta efficacia delle condizioni ambienti che favoriscono la vaporizzazione.

In ogni stagione tuttavia, le perdite di acqua dalla pianta, in misura più o meno limitata o considerevole, ebbero luogo sempre, anche durante le ore notturne, nella piena oscurità, in disparate condizioni meteoriche. E se per le notti relativamente rigidissime della fine di dicembre e della prima decade di gennaio, il fenomeno può, come credo, avere avuto, almeno prevalentemente, il carattere di vaporizzazione fisica superficiale e profonda sull'organo in esperimento, per le notti primaverili ed estive il processo di traspirazione ebbe il suo pieno significato di fenomeno fisiologico, e l'esame degli stomi e i controlli con la carta al cobalto mi confermarono più volte in questa opinione.

Anche sulle Lauracee in questione, adunque, la traspirazione non è abolita nella notte dalla oscurità; questo stesso io ho avuto modo di assodare anche per altre piante sempre verdi, di cui ho trattato in una precedente pubblicazione (1).

La terza parte del mio lavoro è intesa ad apprezzare la condotta fisiologica determinata per ciascuna delle Lauracee in istudio, e a mettere in luce i rapporti in cui stessero la funzione e le attitudini traspiratorie di ogni specie coi più importanti caratteri morfologici del medesimo.

Tra i particolari anatomici, meritano speciale menzione:

1°) Lo sviluppo intenso del parenchima a palizzata, ricco di più serie cellulari e molto compatto nell'intera sua estensione.

2°) La costante presenza di grandi idioblasti secretori contenenti olio etereo, associati, nella foglia di *Persea indica*, di *Oreodafne californica* e di

(1) Puglisi M., *Sulla traspirazione di alcune piante a foglie sempre verdi.* Ann. di Bot., vol. II, 1905, pag. 435-68.

Litsea japonica, a degli idioblasti mucipari, generalmente più ampii. Anche l'epidermide della faccia fogliare superiore della *Persea indica*, e l'epidermide di entrambe le pagine della foglia di *Oreodafne*, se non in tutti i loro elementi, in gran parte di essi contengono dell'olio etereo. Mentre poi le ghiandole oleifere stanno distribuite nella zona di confine tra i due parenchimi del mesofillo, talvolta anche fra gli elementi del palizzata, assai di rado nella regione dello spugnoso sottostante all'epidermide inferiore; gli idioblasti mucipari invece, costantemente ricorrono, in ordini alterni, fra le cellule del parenchima a palizzata, e spesso seguono immediatamente all'interno dell'epidermide snperiore.

3°) La struttura caratteristica degli apparecchi stomatici, per cui gli elementi di chiusura stanno con le cellule annesse in rapporti anatomici intesi a disciplinare mirabilmente il dinamismo di quelli, e a facilitarne, con tale concorso, il còmpito che loro spetta essenzialmente come mezzi di regolazione e di difesa nel processo di traspirazione.

Di altri dettagli inerenti al numero e distribuzione degli stomi, alla potenza dei rivestimenti cutinici, cerosi, tricomatosi, ecc., dell'epidermide fogliare, non credo di dovermi, in questa breve Nota, occupare oltre i limiti del semplice accenno. Solo in merito al rivestimento pilifero, che, tra le Lauracee considerate, troviamo densissimo su tutte le parti, non escluse le foglie, della *Litsea japonica*, stimo opportuno riferire che trattandosi, in questo caso di peli risultanti di cellule vive, ed eliminando perciò anch'essi dell'acqua, la loro utilità va intesa nel senso di regolarizzazione dell'energia traspiratoria dell'organo, e non nel senso assoluto di limitazione della medesima.

Pigliando a considerare ciascuna delle principali proprietà anatomiche delle Lauracee in questione, ne ho in tesi generale discusso il significato e l'importanza nei rapporti con la traspirazione, facendo a tal'uopo tesoro della messe di osservazioni e di studî già esistenti, ed interpretando altresì i risultati delle mie ricerche in proposito.

Esporrò nella mia prossima pubblicazione le conclusioni alle quali io sono riuscito ed il procedimento logico che a tali conclusioni mi hanno condotto.

Nell'ultima parte del mio lavoro, valendomi dei criterî già stabiliti in precedenza, ho compulsato diligentemente i quadri sperimentali, e per ciascuna delle Lauracee prese in esame ho tentato di formulare un giudizio riassuntivo e definitivo. Hanno trovato pertanto la loro interpretazione i fatti diversi e non sempre notorî, rilevati e segnalati nel corso delle ricerche; ma anche per questa parte rimando senz'altro al lavoro integrale.

Un particolare, finalmente, che non voglio qui omettere, è relativo al singolare contrasto in cui stanno in apparenza, per le Lauracee da me studiate, le disposizioni anatomiche dei principali organi della traspirazione, le foglie, e i prodotti della traspirazione medesima. Da una parte infatti

troviamo delle condizioni strutturali che rivelano, se non la necessità assoluta, l'opportunità, almeno, che il soggetto disponga di mezzi atti a disciplinare energicamente il processo traspiratorio, e conseguentemente le perdite di acqua. D'altro canto, poi, le nostre specie han dimostrato di potere, massime in primavera, raggiungere, per intensità di traspirazione, delle quote assai elevate, contraddicendo così il significato di tutti i provvedimenti di difesa messi in luce dall'esame anatomico.

Siffatta discordanza, tuttavia, non è, se bene osserviamo, che apparente, direi, virtuale. Ciascuno dei due fatti enunciati, in realtà, risponde, in diversi momenti del periodo vegetativo, a bisogni diversi dell'individuo, di cui entrambi assicurano, sia pure per lati opposti, il benessere e la regolarità funzionale. A mio giudizio, la pianta che gode appieno della sua integrità fisica ed organica, ha facoltà eziandio di ripudiare o di utilizzare, e in grado diverso, i più efficaci mezzi di difesa di cui essa, in ordine alla meteorologia generale del luogo in cui vegeta, si premunisce durante la sua evoluzione morfologica. Considerazioni e fatti d'indole diversa, che non credo opportuno di tornare ad esporre nella presente Nota, dimostrano la fondatezza di questa mia versione. Non è superfluo, in ogni modo, che io affermi qui come non sia sempre fondato il sistema di apprezzare, di fissare quasi, aprioristicamente, la condotta di un fenomeno fisiologico, per poco che si conosca la morfologia generale e la struttura anatomica del vegetale in cui il fenomeno ha la sua sede. Un criterio siffatto è valevole e logico per un apparecchio, per un sistema meccanico, le cui funzioni obbediscono e rispondono rigorosamente a leggi fisiche o fisico-chimiche; ma si dimostra insufficiente per una pianta viva, al cui servizio, oltre a coefficienti puramente fisici e chimici, altri ne concorrono, i quali rientrano nel dominio della fisiologia propriamente detta e della ecologia, e della vita stessa sono la caratteristica essenziale e costante.

Delle conclusioni poste in fine al mio lavoro, e nelle quali ho cercato di radunare in una sintesi i risultati principali delle ricerche sulle Lauracee, basterà ch'io riporti qui la sola che si riferisce alla fisionomia generale del fenomeno di cui mi sono proposto lo studio.

L'energia di traspirazione delle Lauracee prese in esame presenta il suo grande periodo annuale, con un *minimo* nella stagione più fredda e meno luminosa, precisamente tra la fine di dicembre e la metà del gennaio successivo. L'*ottimo* segnalato dalla curva periodica cade in primavera inoltrata, allorchè la vegetazione generalmente gode del massimo rigoglio, favorita in ciò dalle più opportune condizioni d'ambiente. La curva declina per solito col sopravvenire dei calori estivi e della siccità, e si può andare, in questa discesa, fino a rasentare i gradi dell'attività invernale.

Per la *Persea indica*, per l'*Oreodafne* e la *Tetranthera*, l'intensità di

traspirazione si eleva ancora nei mesi di estate, ma tale progresso è sempre debole e sproporzionato all'efficacia degli agenti atmosferici favorevoli al fenomeno traspiratorio.

In autunno, finalmente, col ritorno delle pioggie, la traspirazione si riattiva, ma precariamente e in modo irregolare, restando sempre lontana dai livelli raggiunti nel periodo primaverile.

Microbiologia. — *Osservazioni sui Sarcosporidi* (1). Nota del dott. A. Negri, presentata dal Socio B. Grassi.

Interessanti ricerche dello Smith (2) hanno già da alcuni anni dimostrato che è possibile produrre sperimentalmente in alcuni mammiferi l'infezione da Sarcosporidi.

Lo Smith difatti, facendo ingerire a topi — di solito al comune topolino delle case (*Mus musculus* L.) ma anche a topolini bianchi (*Mus musculus* var. *albinus*) — muscoli di individui della stessa specie infetti da *Sarcocystis muris* (Blanch.) Labbé, ha ottenuto la comparsa dei parassiti in una elevata percentuale degli animali da esperimento. Ha potuto stabilire inoltre che è necessario un periodo di tempo relativamente lungo prima che detti parassiti si presentino con forme avanzate nello sviluppo e riconoscibili ad occhio nudo; circostanza che dà la probabile spiegazione dei risultati infruttuosi di precedenti osservatori, che pure tentarono riprodurre l'infezione per la via del tubo gastro-enterico.

Malgrado il valore di tali esperienze che sono le prime a dimostrare, — sia pure limitando le conclusioni alla specie di mammiferi presi in esame — come può prodursi l'infezione da parte di questi protozoi parassiti, pochi autori hanno su di esse fermato la loro attenzione. Due soli, a quanto ho potuto rilevare — M. Koch (3) e in questi ultimi tempi Negre (4) — hanno ripetuto le ricerche dell'illustre biologo americano, con risultati che sono di piena conferma a quanto egli per primo ha reso noto.

Tanto il Koch come il Negre hanno pure adoperato topolini, infettandoli con muscoli di altri topolini affetti da *Sarcocystis*.

(1) Lavoro eseguito nel Laboratorio di Patologia generale della R. Università di Pavia.

(2) Th. Smith, *The production of sarcosporidiosis in the mouse by feeding infected muscular tissue*, Journ. of Exper. Med., vol. VI, n. 1, 1901; *Further observations on the transmission of Sarcocystis muris by feeding*, Journ. Med. Research, vol. XIII, n. 4, 1905.

(3) M. Koch, *Die experimentelle Uebertragung der Miescher'schen Schläuche* Berl. klin. Woch. 1904, pag. 321.

(4) L. Negre, *Sarcosporidiose expérimentale*, C. R. Soc. Biologie, 26 ottobre 1907, pag. 374.

A queste conferme io posso aggiungere che da più di due anni ottengo con regolarità l'infezione da Sarcosporidi nei Muridi, facendo ad essi ingerire muscoli che contengono la *Sarcocystis muris*. Mentre i ricercatori su ricordati hanno adoperato il *Mus musculus* L., io invece mi sono servito quasi sempre del *Mus decumanus* Pall. var. *albinus* con risultati identici, per quanto si riferisce alla possibilità dello stabilirsi dell'infezione: fatto del resto prevedibile, data la relativa frequenza con la quale entrambe le specie possono, in natura, ospitare il parassita.

Sulla infezione sperimentale da *Sarcocystis muris* nei grossi topi albini intendo soffermarmi in altra comunicazione.

Con questa nota mi propongo di rendere noti gli interessanti risultati di una serie di esperienze dirette ad indagare se si può ottenere l'infezione sperimentale da Sarcosporidi anche in altre specie di mammiferi.

Il desiderio di istituire tali esperimenti sorgeva, io credo, spontaneo, data la possibilità, ormai posta fuori discussione, di riprodurre la sarcosporidiosi nei Muridi per la via del tubo gastro-enterico. Nè la questione rimaneva isolata, ma ad essa altri problemi si presentavano connessi, quali ad esempio se l'ingestione di muscoli di un animale infetto da un determinato Sarcosporidio può produrre l'infezione in un animale di specie diversa; se, dato che ciò avvenga, il parassita si presenta in entrambi gli ospiti con gli stessi caratteri morfologici e con le stesse proprietà, ecc. ecc.

Per risolvere, sia pure alcuni di questi punti, già da parecchi mesi ho incominciato una serie di minute e pazienti ricerche su varie specie di mammiferi nutriti ad epoche varie con muscoli infetti da Sarcosporidi.

Dopo alcuni tentativi su diversi animali, la mia preferenza si è fermata sulla cavia, per svariate ragioni, che forse non è inutile che io accenni.

La cavia infatti, per le dimensioni relativamente piccole, si presta in modo opportuno ad accurate ricerche microscopiche di interi gruppi muscolari.

Inoltre di questi mammiferi non è difficile trovare dei gruppi numerosi di individui che provengano tutti dallo stesso allevamento, che siano della stessa età e peso, che abbiano sempre vissuto riuniti e nelle medesime condizioni. Circostanze che ritengo abbiano grande valore e siano indispensabili per permettere, con sicuro affidamento, di sottoporre alcuni animali all'esperienza e di lasciarne invece altri a controllo.

Se si aggiunga infine che con relativa facilità si possono abituare le cavie ad ingerire i muscoli infetti, e se si tien conto che la cavia è una delle poche specie di mammiferi in cui non sono stati descritti finora Sarcosporidi, si comprende come a questa dovessi dare la preferenza per istituire le osservazioni i cui risultati formano l'oggetto della presente nota.

Le osservazioni delle quali per ora intendo riferire, si dividono in tre

esperienze eseguite su tre gruppi di cavie, complessivamente su 23 animali.

Di ogni esperienza credo opportuno esporre nei particolari le modalità con le quali venne condotta.

Esperienza I.

In questa esperienza, incominciata il 18 marzo 1907, mi sono servito di nove cavie provenienti da un comune della provincia di Brescia: animali del peso di 450-500 gr. circa cadauno, cresciuti uniti nel medesimo ambiente, sempre vissuti nelle stesse condizioni.

Delle nove cavie ne tenni cinque a controllo; alle altre quattro, nei giorni che indicherò, diedi come nutrimento muscoli di *Mus decumanus* infetti da *Sarcocystis muris*. I muscoli erano tolti di regola dall'animale appena ucciso: tagliuzzati, venivano intimamente frammisti con pane ovvero con crusca: il tutto di solito inumidito con soluzione fisiologica. Ho avuto cura, le prime volte, di isolare i singoli animali in gabbiette separate, per accertarmi che ognuno di essi avesse realmente ingerito l'alimento carneo.

I muscoli, sempre contenenti la *Sarcocystis muris* visibile ad occhio nudo e sempre del topo delle chiaviche, furono dati sette volte alle quattro cavie, che li accettarono di buon grado, dimostrando anzi a tale cibo una predilezione che non ho più riscontrato negli animali di altra provenienza.

La prima somministrazione ebbe luogo il 18 marzo, le altre il 25 marzo, il 3, 15, 18, 29 aprile ed il 6 maggio. Eccettuati questi giorni, le cavie in esperienza e quelle di controllo furono custodite in una medesima gabbia, in due compartimenti separati e furono alimentate sempre nello stesso modo (verdura e crusca).

Delle quattro cavie assoggettate ad intervalli all'alimentazione carnea, una fu uccisa il 15 maggio, 58 giorni dalla prima ingestione (Esp. I, cavia n. 1); una il 4 giugno, dopo 78 giorni (Esp. I, cavia n. 2); la terza il 7 giugno, dopo 81 giorni (Esp. I, cavia n. 3); l'ultima infine il 1° luglio, dopo 104 giorni (Esp. I, cavia n. 4).

Gli animali si mantennero sempre in condizioni normali, in apparenza ottime.

Delle cavie di controllo, la prima fu uccisa il 18 marzo, al principio dell'esperienza: un'altra il 25 maggio, un'altra il 22 giugno; le rimanenti rispettivamente l'8 e il 10 luglio (Esp. I, cavie controllo n. 1, n. 2, n. 3, n. 4, n. 5).

Esperienza II.

Ho adoperato cinque cavie, del peso di circa 400 gr. cadauna, provenienti dai dintorni di Pavia e che sempre avevano insieme vissuto. Con le modalità esposte, ho assoggettato all'alimentazione carnea tre delle cavie; due rimasero a controllo.

Le prime tre cavie furono nutrite con muscoli infetti 6 volte: il 26 marzo, il 15, 16, 18, 29 aprile, il 6 maggio 1907. Fino a questo giorno mantenni i due gruppi di animali separati, sebbene nella medesima camera; poscia li riunii in una sola gabbia, dopo avere opportunamente contraddistinti i singoli individui. Questi si mostrarono alquanto riluttanti, in modo speciale alle prime somministrazioni, alla nutrizione carnea, sebbene il cibo fosse preparato sempre con le modalità già ricordate, anzi molte volte fosse lo stesso materiale che riusciva tanto accetto ai soggetti della Esperienza I.

Delle cavie sottoposte all'alimentazione carnea, la prima fu uccisa il 29 maggio, 64 giorni dopo la prima ingestione (Esp. II, cavia n. 1); una morì spontaneamente il 23 giugno, dopo 89 giorni (Esp. II, cavia n. 2); l'ultima, in condizioni in apparenza normali, fu uccisa il 7 luglio, dopo 103 giorni (Esp. II, cavia n. 3).

Le due cavie controllo furono sacrificate rispettivamente il 1° maggio e il 25 luglio (Esp. II, cavie controllo n. 1 e n. 2).

Esperienza III.

Questa esperienza è stata condotta su nove cavie provenienti da Zinasco (provincia di Pavia). Anche questi erano animali tutti dello stesso allevamento, vissuti sempre in identiche condizioni ed all'incirca della medesima età (peso di ogni animale gr. 400 circa).

A quattro delle cavie diedi — in sei riprese — i muscoli di *Mus decumanus* infetti, preparati nel modo noto: le date dell'ingestione furono il 7, 8, 11, 12, 24, 30 dicembre 1907. Gli animali — lasciati alquanto a digiuno prima di ogni pasto — ingerirono ogni volta i muscoli senza alcuna difficoltà. Esclusi i giorni su riferiti, furono mantenuti, per tutta la durata dell'esperienza, nello stesso ambiente, sebbene in gabbia separata, con le cavie di controllo, e nutriti con lo stesso cibo.

Le cavie del primo gruppo furono sacrificate: il 26 gennaio 1908, dopo 50 giorni dalla prima ingestione (Esp. III, cavia n. 1); il 28 ed il 31 dello stesso mese, rispettivamente 52 (Esp. III, cavia n. 2) e 55 giorni (Esp. III, cavia n. 3) dal principio dell'esperienza; il 4 febbraio, dopo 59 giorni (Esp. III, cavia n. 4).

Delle cinque cavie di controllo, due le uccisi il 1° dicembre 1907, una il 1° gennaio 1908; le altre due rispettivamente il 4 e il 15 febbraio (Esp. III, cavie controllo n. 1, n. 2, n. 3, n. 4, n. 5).

Di ognuna delle 23 cavie ho sottoposto ad attento esame i muscoli. Sebbene non abbia trascurato di rivolgere la mia attenzione sui muscoli delle diverse regioni del corpo, tuttavia in tutti gli animali ho insistito di preferenza sui muscoli pettorali, e ciò per procedere nelle ricerche in modo uniforme e per avere maggiori garanzie nell'apprezzamento dei risultati.

I muscoli furono esaminati a fresco, previa accurata dilacerazione in soluzione fisiologica, e in sezioni, dopo inclusione in paraffina, qualche rara volta in celloidina.

Per questo secondo metodo di ricerca, che venne eseguito in ogni caso, gli interi muscoli pettorali, dissecati con cura e staccati dai loro punti di inserzione, furono distesi su lamine di sughero e su queste mantenuti, mediante aculei di riccio, in tutti i passaggi nei diversi liquidi. Con tale artificio si hanno delle lamine muscolari che, divise poi ulteriormente, ed incluse, sempre con le cautele atte ad evitare l'accartocciarsi del pezzo, offrono una ampia superficie e permettono di eseguire sezioni ampie, fino ad 1 cmq. e anche più.

Si comprende, data anche la natura del tessuto, che per ottenere ciò è necessario che l'inclusione venga eseguita con cura scrupolosa; di grande vantaggio, in molti casi, mi si è dimostrato il procedimento al solfuro di carbonio, secondo i precetti suggeriti dall' Haidenhein.

Nella prima cavia dell'Esperienza I, per la fissazione ho ricorso all'alcool assoluto, al sublimato alcoolico acetico, al liquido di Zenker; in tutte le altre ho adoperato il solo alcool assoluto, dal quale ho avuto ottimi risultati per riguardo al reperto oggetto di questa nota.

La colorazione delle sezioni è stata fatta coll'emallume; in molti casi fu seguìta da una seconda colorazione di fondo.

Nelle cavie assoggettate alle intermittenti somministrazioni di muscoli — delle quali ho riferito sopra le date — ad eccezione di due, ho potuto constatare, nelle fibre muscolari dei muscoli pettorali, una forma di Sarcosporidio che mi sembra non sia stata ancora descritta.

Tale Sarcosporidio si presenta con caratteri che si possono dire costanti.

Di forma ellittica od ovalare, allungato, con il maggior asse disposto sempre in direzione parallela all'asse longitudinale della fibra, ad estremità di regola rotondeggianti, il parassita, più o meno abbondante nei singoli animali, risiede sempre nella fibra muscolare striata (v. fig. n. 1, n. 2 e n. 3).

Una fibra di solito contiene un solo microrganismo; talvolta però ne ho riscontrato due molto ravvicinati e disposti l'uno dopo l'altro nello stesso elemento: in tal caso le estremità di contatto, anzichè essere rotondeggianti, si presentano alquanto appiattite (v. fig. n. 3).

I diametri delle forme parassitarie oscillano tra limiti relativamente ampî; ho osservato, nelle sezioni, forme con un diametro longitudinale di 40 μ, altre di quasi 100 μ. Il maggior numero però, ne' miei preparati, si mantiene sui 70-90 μ. Una sola volta (Esp. II, cavia n. 3) ho riscontrato un diametro massimo di circa 140 μ.

Ripetute misurazioni del diametro trasverso in parecchi esemplari portano a concludere che questo diametro può variare da 15 a 30 μ e più.

A tali cifre però non credo si debba dare un valore assoluto, perchè non posso escludere che sui diametri, e di conseguenza sulla forma più o meno ovalare o rotondeggiante che il parassita presenta nelle sezioni, abbia eventualmente ad influire il grado maggiore o minore di distensione della fibra muscolare nel momento in cui viene immersa nel liquido fissatore.

Ad ogni modo, queste cifre stanno a dimostrare che in nove delle cavie da me esaminate, si è avuto il reperto costante di una forma di Sarcosporidio che — se si tien conto dello stadio di sviluppo che ha raggiunto — possiede delle dimensioni molto piccole, in modo speciale se si confrontano con le dimensioni che nello stesso stadio di sviluppo assumono altri Sarcosporidi, ad es. quello conosciuto come *Sarcocystis muris*.

Le forme parassitarie da me riscontrate nella cavia si presentano infatti ripiene di spore: sono Sarcosporidi che hanno compiuto quella parte del ciclo che si svolge nell'interno della fibra muscolare striata.

Le spore in ogni individuo sono assai numerose e così fittamente addossate fra loro che di solito riesce molto difficile valutarne con precisione la forma e le dimensioni. Talvolta però anche nelle sezioni — con ogni probabilità per azione puramente meccanica — si osservano piccoli ammassi di spore isolate in immediata vicinanza d'un parassita, ovvero addossate alla faccia interna della membrana, quando essa è stirata e allontanata dalla sua posizione normale. In questi casi si può constatare che le spore sono assai piccole, ma hanno la forma a semiluna, a falce, l'aspetto e le proprietà tipiche di quelle degli altri Sarcosporidi (v. fig. n. 4).

Ognuno di questi piccoli « corpicciuoli falciformi » — in cui la distanza massima tra i due punti estremi oscilla fra 3 e 5 μ, a seconda che l'elemento è più o meno ricurvo — è provvisto di nucleo che si colora coll'ematossilina.

Il nucleo a debole ingrandimento appare come un piccolo granulo, del diametro massimo di circa 1 μ; a ingrandimento maggiore si rileva che esso ben di frequente non costituisce un ammasso omogeneo, ma nella parte centrale presenta una porzione più chiara. Nelle spore isolate, nelle quali i particolari si possono apprezzare con maggior nettezza, in qualche caso si vede anche che il nucleo risulta di due porzioni distinte, è costituito da due piccoli ammassi di forma alquanto allungata e disposti parallelamente tra loro e in direzione parallela all'asse maggiore della spora (v. fig. n. 4). Questa disposizione mi ricorda, tenuto conto delle diversità del metodo d'esame, i peculiari aspetti che nei preparati colorati con il metodo del Romanowsky assume la cromatina delle spore della *Sarcocystis* del topo delle chiaviche e della *Sarcocystis* del cavallo; aspetti che ho fatto oggetto di particolare descrizione (1).

(1) A. Negri, *Osservazioni sui Sarcosporidi*, Rendiconti R. Accademia Lincei (C sc. fis. e nat. 1908).

I nuclei delle spore, nelle numerose forme parassitarie da me esaminate, si presentano tutti della stessa grandezza; nel loro insieme, avvenuta la colorazione, danno al corpo del protozoo un aspetto finamente granuloso, caratteristico, tale da permettere di accertare con facilità, nelle sezioni, la presenza del parassita anche con deboli sistemi di lenti.

I « corpuscoli falciformi » sono racchiusi e ravvolti da una esile membrana, che sotto forma di una linea sottile e rigida segna nettamente il contorno del parassita, delimitandolo dalle circostanti fibrille muscolari.

Nella membrana non mi è stato possibile rilevare alcuna struttura, e neppure ho potuto vedere se dalla sua faccia interna si dipartano dei filamenti a formare il noto sistema di trabecole nell'interno dello Sporozoo.

A fresco solo rare volte sono riuscito ad osservare questo interessante microrganismo; tale esame conferma i reperti che in modo più completo si hanno nelle sezioni colorate.

A fresco i parassiti si presentano come corpi allungati, ellittici od ovoidali, a contorni netti, regolari, senza nessuna speciale struttura della membrana. Sono formazioni rifrangenti e all'interno finamente granulose. In un caso in cui, per insulto meccanico, avvenne in un punto la rottura della membrana, ho potuto assistere alla fuoruscita di piccole spore di forma tipica: ognuna presentava, più ravvicinato ad uno degli estremi, un piccolo spazio chiaro.

Ripeto però che le mie osservazioni su questo Sarcosporidio, a fresco, meritano di essere ripetute, perchè sono state assai scarse. La ragione di ciò è dovuta alle difficoltà di tale esame; difficoltà da riferire alle piccole dimensioni del microrganismo, da un lato, d'altro lato allo scarso numero col quale ben di frequente esso si presenta nelle cavie.

Per attenermi ai fatti, ricorderò che nell'Esperienza I, mentre nella cavia n. 1, in quasi tutte le sezioni di muscoli pettorali, ho riscontrato le forme ora descritte, nelle altre tre cavie (Esp. I, cavia n. 2, n. 3, n. 4) la ricerca è stata molto laboriosa, e soltanto su decine e decine di ampie sezioni di circa 1 cmq. ho potuto trovare in ogni cavia rari parassiti.

Nell'Esperienza II, nella cavia n. 1, su 60 ampie sezioni ho trovato un parassita; nella cavia n. 3, tre o quattro forme su 20 sezioni.

TAVOLA RIASSUNTIVA DELLE ESPERIENZE

N.° d'ordine esperienza	Cavie adoperate		Cavie nutrite con muscoli infetti da Sarcosporidi		Cavie lasciate a controllo		Data ingestione muscoli infetti	Data della morte dell'animale	Giorni trascorsi dalla 1ª ingestione	Reperto di Sarcosporidi	
	Provenienza	Numero	n.° totale	n.° d'ordine	n.° totale	n° d'ordine				nelle cavie in esperienza	nelle cavie controllo
I	Provincia Brescia	9	4	1 2 3 4			1907 marzo 18-25 aprile 3-15-18-29 maggio 6	15 maggio 1907	58	positivo	
								4 giugno »	78	positivo	
								7 » »	81	positivo	
								1 luglio »	104	positivo	
					5	1		18 marzo »			negativo
						2		25 maggio »			negativo
						3		22 giugno »			negativo
						4		8 luglio »			negativo
						5		10 » »			negativo
II	Dintorni Pavia	5	3	1 2 3			1907 marzo 26 aprile 15.-16-18-29 maggio 6	29 maggio 1907	64	positivo	
								23 giugno »	89	negativo	
								7 luglio »	103	positivo	
					2	1		1 maggio »			negativo
						2		25 luglio »			negativo
III	Zinasco (Provincia Pavia)	9	4	1 2 3 4			1907 dicembre 7-8-11-12-24-30	26 gennaio 1908	50	positivo	
								28 » »	52	negativo	
								31 » »	55	positivo	
								4 febbraio »	59	positivo	
					5	1		1 dicembre 1907			negativo
						2		1 » »			negativo
						3		1 gennaio 1908			negativo
						4		4 febbraio »			negativo
						5		15 » »			negativo

Nell'Esperienza III, nella cavia n. 1, i parassiti si presentavano assai scarsi; meno infrequenti nella cavia n. 3; discretamente numerosi nella cavia n. 4.

Nella cavia n. 2 dell'Esperienza II e nella cavia n. 2 dell'Esperienza III, malgrado la più accurata osservazione sui muscoli pettorali sezionati quasi completamente, e malgrado io abbia esaminato con diligenza un numero di sezioni di gran lunga maggiore di quelle che mi furono necessarie per stabilire la presenza del protozoo nelle cavie che più scarso lo presentavano, la ricerca del microrganismo è stata infruttuosa.

Negativa è stata pure la ostinata e paziente ricerca di Sarcosporidi in tutte le 12 cavie di controllo (5 dell'Esperienza I, 2 dell'Esperienza II, 5 dell'Esperienza III). Mentre nelle cavie che ingerirono i muscoli infetti da *Sarcocystis muris* l'esame di regola fu limitato ai muscoli pettorali, in quelle di controllo fu esteso anche ai muscoli di altre regioni (muscoli della parete addominale, muscoli del dorso, muscoli delle coscie, ecc.); malgrado ciò, il risultato è stato costantemente negativo.

Riassumendo quanto ho esposto finora, si ha un insieme di osservazioni che si riferiscono a 23 cavie divise in tre gruppi.

Ogni gruppo è costituito da individui dello stesso allevamento, della medesima età e peso, che hanno sempre vissuto riuniti nelle medesime condizioni e che sono stati nutriti sempre nello stesso modo.

Nei singoli gruppi però, parte delle cavie ingerisce ripetutamente muscoli infetti di *Sarcocystis muris*; l'unica nota questa che differenzia tali animali dagli altri del medesimo gruppo, che rimangono a controllo.

Delle 11 cavie sottoposte all'alimentazione carnea, 9, uccise a distanze di tempo varie dal giorno della prima ingestione, ospitano, ora più ora meno abbondante, una caratteristica forma di Sarcosporidio.

Questo si presenta in tutti i casi con gli stessi caratteri e nel medesimo stadio: come cisti ellittiche od ovalari, ad estremità di solito rotondeggianti, di piccole dimensioni (da 40 a 100, eccezionalmente di più, μ in lunghezza, larghe 25, 30, 35 μ), a membrana semplice esilissima, ripiene di un grande numero di spore falciformi, ognuna delle quali è provvista di un nucleo.

Nella cavia n. 3 dell'Esperienza II, accanto ad una di dette cisti ho trovato inoltre un'immagine che credo non possa interpretarsi altrimenti che un parassita in uno stadio precoce di sviluppo: ma su questo punto ritornerò in altra occasione.

Nelle altre due cavie nutrite con muscoli infetti e nelle 12 cavie lasciate a controllo, ogni ricerca di Sarcosporidi, sia a completo sviluppo che in altri stadî, è stata assolutamente negativa.

A questo punto, e tenendo presente il fatto ormai accertato, che l'ingestione di muscoli infetti produce nei Muridi la sarcosporidiosi, io credo

si possa logicamente supporre che la comparsa nelle cavie della peculiare forma di Sarcosporidio che ho descritta, sia da mettere in rapporto con la ingestione di muscoli infetti da *Sarcocystis muris*.

Che a ciò sia da riferire l'infezione, a me sembra più che probabile, perchè l'obbiezione che si potrebbe sollevare, che cioè la comparsa del microrganismo sia da attribuirsi ad altre cause, e non già ai muscoli ingeriti, ovvero sia una infezione eventualmente preesistente nell'animale, viene rimossa dal risultato degli esami nelle numerose cavie di controllo. In queste ultime, sacrificate e al principio dell'esperienza e ad esperienza avanzata e alla fine, ovvero parecchio tempo dopo la morte degli animali artificialmente infettati, non fu mai riscontrato un Sarcosporidio.

A questo proposito voglio far rilevare la garanzia che offre il metodo da me seguìto, di istituire cioè confronti accurati fra animali della stessa razza ed età e vissuti sempre nelle medesime condizioni; procedimento che dà senza dubbio maggior sicurezza nel giudizio, che non l'escisione di un pezzetto di muscolo dai singoli soggetti al principio della ricerca. Nel caso speciale dovrei dire che tale modalità è da abbandonarsi per il numero talvolta veramente esiguo delle forme dello Sporozoo.

Non mi nascondo che per poter affermare con certezza che le cavie di controllo erano prive di Sarcosporidi sarebbe stato necessario in ogni cavia l'esame di tutti i muscoli del corpo.

A parte l'impossibilità pratica, io pongo però la questione, se ciò era veramente indispensabile.

Da quanto ho esposto, risulta che parecchie delle cavie sottoposte alla nutrizione carnea presentavano rarissimi parassiti nei muscoli pettorali; in alcune però tali protozoi erano discretamente abbondanti. A me sembra che, qualora si fosse trattato di infezione naturale, anche nelle cavie di controllo, o in quasi tutte, sia pure più o meno numerose, si sarebbero dovute trovare le cisti caratteristiche; invece, per quanto possa sembrare superfluo il ripeterlo, esse mancavano affatto e non solo nei muscoli pettorali, ma anche in quelli di altre regioni.

Nè è da trascurarsi inoltre il fatto che nella cavia — che pure è uno dei più comuni animali di studio — Sarcosporidi non sono mai stati descritti. Anche questa circostanza non ha un valore assoluto; ad ogni modo è un altro argomento contro l'ipotesi della infezione naturale.

L'ingestione ripetuta di muscoli di Mus decumanus abbondantemente infetti con stadii sviluppati di Sarcocystis muris determina dunque una sarcosporidiosi nella cavia.

Il parassita però in questa specie non si presenta come nel genere *Mus*, ma con dimensioni molto minori, e tale diminuzione si riferisce a tutto il corpo del parassita ed alle singole spore.

Nella fibra muscolare della cavia verosimilmente il protozoo non trova

le condizioni favorevoli di sviluppo che gli offre invece la fibra del topo; sono forse a ciò da riferirsi le piccole dimensioni e la rapida evoluzione del microrganismo. Nel *Mus decumanus* (*albinus*) è soltanto verso il cinquantesimo giorno dall'ingestione che ho riscontrato finora — analogamente a quanto è descritto nel *Mus musculus* — le più giovani forme del parassita, e in uno stadio assai precoce; a tale epoca invece nella cavia si hanno già otricoli « maturi », nei quali, a giudicare dalle dimensioni dei piccoli nuclei, la formazione delle spore è avvenuta in modo completo.

Mentre nel *Mus* l'accrescimento del protozoo continua progressivamente fino a raggiungere la nota lunghezza (gigantesca se confrontata con la primitiva), nella cavia i diametri si mantengono nei limiti che ho ricordato; e questo per un periodo di tempo che va — nelle mie esperienze — da 50 a 104 giorni dalla ingestione del materiale infettante.

L'ingestione, come ho detto, deve essere ripetuta, se è possibile, a brevi periodi di distanza; condizione che, guidato da altri concetti direttivi, io ho soddisfatto casualmente nelle prime due esperienze, ed ora, oserei dire, ritengo necessaria, in base al risultato di altre ricerche che devo ancora completare. Anche questo fatto mi sembra un'altra prova della poca recettività della cavia all'infezione.

Le mie ricerche — che non dubito avranno piena conferma, se verranno ripetute con le modalità da me seguìte — credo presentino, anche da un punto di vista generale, un certo interesse.

I miei risultati dimostrano anzitutto che non solo nei Muridi, ma anche in altri mammiferi può stabilirsi l'infezione da Sarcosporidi per la via del tubo gastro-enterico, qualunque siano poi le modalità e la via con le quali il parassita raggiunge la fibra muscolare.

Dimostrano inoltre che un Sarcosporidio, che in un mammifero si presenta con determinati caratteri, sviluppandosi in un'altra specie di mammiferi può assumere delle note morfologiche tanto diverse, da lasciar supporre a tutta prima che si tratti di Sarcosporidî distinti.

Tale fu la mia impressione, a dire il vero, quando trovai i parassiti delle cavie dell'Esperienza I; impressione che si dovette poi modificare in seguito al regolare presentarsi del microrganismo in quasi tutte le cavie alle quali avevo somministrato l'alimento carneo, in seguito alla sua costante mancanza in quelle che di detto cibo furono lasciate prive.

Tale fatto, dal punto di vista della sistematica, merita di essere preso in considerazione. In questi protozoi, ancora così poco conosciuti, si distinguono parecchie specie, in base a caratteri morfologici ed a seconda dell'ospite in cui si presentano. Il Labbé [1] ad es., annovera nove specie certe, sedici incerte.

[1] A. Labbé, *Tierreich.* 5 *Lief. Sporzooa* 1899.

Da quanto ora sappiamo, possiamo accettare senza alcuna riserva tale classificazione?

Con ciò io non esprimo che un dubbio, il quale però mi sembra giustificato, e non faccio che esporre un quesito che potrà essere argomento di future ricerche.

SPIEGAZIONE DELLE FIGURE

(v. la tavola annessa).

Fig. 1. — Parassita in una sezione di muscolo pettorale della cavia n. 4, Esp. III.
Colorazione emallume-eosina
Obb. 5, oc. 4 Koristka.

Fig. 2. — Parassita in una sezione di muscolo pettorale della cavia n. 4, Esp. III.
Colorazione emallume-eosina.
Obb. 5, oc. 4 Koristka.

Fig. 3. — Due parassiti in una fibra muscolare. Sezione di muscolo pettorale della cavia n. 4, Esp. I.
Colorazione emallume-eosina.
Obb. 5, oc. 4 Koristka.

Fig. 4. — Porzione periferica di un parassita della cavia n. 1, Esp. I. Le spore che nel disegno sono riprodotte a destra sono ancora contenute nella membrana; quelle a sinistra sono fuoruscite.
Colorazione emallume-orange G.
Obb. mm. 1,5, apert. 1,30, immers. omog. Zeiss.; oc. comp. 8.

Tutte le figure furono disegnate con la camera lucida mod. Apáthy, foglio all'altezza del preparato, lunghezza tubo mm. 160.

MEMORIE
DA SOTTOPORSI AL GIUDIZIO DI COMMISSIONI

La Rosa M. — *Trasformazioni dello spettro dell'arco elettrico cantante.*
Pres. dal Segretario.

PRESENTAZIONE DI LIBRI

Il Socio Volterra fa omaggio del 1° volume degli *Atti* della Società italiana per il progresso delle scienze, e dà notizia di quanto nel volume è contenuto.

COMITATO SEGRETO

Le due Classi si riuniscono in Assemblea generale, cui il Presidente Blaserna dà comunicazione di una lettera dell' illustre Socio straniero dott. Ludwig Mond, colla quale quest'ultimo si dichiara disposto a fondare un

premio biennale, perpetuo ed internazionale, di L. 10 mila, in onore del Socio senatore Stanislao Cannizzaro, per la Chimica e la Fisico-Chimica. Per provvedere al regolare funzionamento di tale Fondazione, il dott. Mond offre di dare, in Consolidato italiano 3 $^1/_2$ per cento, la rendita netta occorrente per il premio, per le tasse, e per le relative spese d'amministrazione.

L'Accademia accoglie con grandi applausi la generosa offerta che altamente onora il Socio Cannizzaro e l'Accademia istessa; e all'unanimità delibera:

1° di accettare la fondazione del « Premio Stanislao Cannizzaro »;

2° di dare incarico al Presidente di formulare lo Statuto che regolerà il premio suddetto, prendendo gli opportuni accordi col dott. Mond e col senatore Cannizzaro;

3° di esprimere al Socio dott. Mond i sensi di viva gratitudine dell'Accademia per la sua generosa istituzione.

E. M.

Fig.1.

Fig.2.

Fig.3.

Fig.4.